

**UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES
VON ALTER UND TALGDRÜSENAKTIVITÄT
AUF DEN ALPHA-TOCOPHEROL-GEHALT DES MENSCHLICHEN
SEBUMS**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades**

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Robina Seefluth

geboren am 25. November 1974 in Berlin

GUTACHTER

1. Prof. Dr. med. habil. Peter Elsner, Klinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum Jena
2. Dr. med. habil. Jens Thiele, Dermatology Specialists, Murrieta, USA
3. Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.06.2012

Meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis

BPO	Benzoylperoxid
CITI	Collaborative IRB Training Initiative
ERK	extracellular signal-related kinase
HACAT-Keratinocyten	Human Adult Low Calcium High Temperature Keratinocytes
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ROS	Reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
SC	Stratum corneum
SqmOOH	Squalenmonohydroperoxid
TEWL	transepidermal water loss, transepidermaler Wasserverlust
UVA	ultraviolette Strahlung (320-400nm)
UVB	ultraviolette Strahlung (280-320nm)

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	3
2	Einleitung	4
2.1	Anatomie und Aufbau der menschlichen Haut	4
2.2	Stratum corneum und Hautbarriere	8
2.3	Sebum und Hautoberflächenlipide, Zusammensetzung und Biosynthese von Sebum... 9	
2.3.1	Physiologie der Hautoberflächenlipide	11
2.4	Funktion von Sebum auf der Haut.....	12
2.4.1	Faktoren, die die Sebumexkretion beeinflussen	14
2.5	Talgdrüsenvermittelter Vitamin-E-Transport an die Hautoberfläche	17
2.6	Umwelteinflüsse auf die menschliche Haut	18
2.6.1	Das antioxidative Netzwerk der Haut.....	19
2.7	Oxidativer Stress	21
2.8	Vitamin E/Tocopherol	21
2.8.1	Chemische Struktur	21
2.8.2	Physiologische Funktion und Wirkungsweise von Tocopherol	22
2.8.3	Effekt von topischer bzw. oraler Tocopherol-Supplementation beim Menschen .. 24	
3	Ziele der Arbeit.....	26
4	Methodik (Material und Methoden)	28
4.1	Patienten/Probanden	28
4.2	Votum der Ethikkommission.....	29
4.3	Untersuchungsmaterialien	30
4.3.1	Chemikalien und Puffer.....	30
4.3.1.1	Chemikalien.....	30
4.3.1.2	Puffer	30
4.3.2	Geräte und Arbeitsmaterialien.....	31
4.3.2.1	Arbeitsmaterialien	31
4.3.2.2	HPLC-Geräte	32
4.3.2.3	Weitere Geräte.....	32
4.4	Studienprotokoll und Ablauf	32
4.4.1	Inhalt des Aushanges	32
4.4.2	Entnahme/Sammlung der Sebumproben	33
4.4.3	Sebumsammlung, Sebutape [®] -Technik	33

4.4.4	Aufbereitung der Tapes.....	35
4.4.5	Bestimmung von α -Tocopherol und Squalen mittels HPLC.....	36
5	Ergebnisse.....	37
5.1	Studienpopulation und statistische Vergleiche.....	37
5.2	Squalenspiegel im Stirnsebum sind sehr niedrig in der frühen Kindheit und beginnen in der Pubertät zu steigen.....	38
5.3	α -Tocopherolspiegel im Sebum des Gesichtes sind bei Pubertierenden signifikant niedriger als bei Erwachsenen.....	39
5.4	Das Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen (α -Tocopherol/Squalen) ist bei Säuglingen und Kleinkindern am höchsten und erreicht ein Minimum bei Jugendlichen.....	41
6	Diskussion.....	44
7	Schlussfolgerungen.....	49
8	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	52
9	Abbildungsverzeichnis.....	60
10	Tabellenverzeichnis.....	61
11	Anhang.....	62
11.1	Originalinformation und Einverständniserklärung für Jugendliche zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden.....	62
11.2	Originalinformation und Einverständniserklärung für Erwachsene zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden.....	66
11.3	Originalinformation und Einverständniserklärung für Teilnehmer unter 12 Jahren zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden.....	70
11.4	Aushang im Children's Memorial Hospital.....	75
11.5	Ehrenwörtliche Erklärung.....	76
11.6	Danksagung.....	77

1 Zusammenfassung

Die menschliche Haut bildet die natürliche Barriere zwischen Körper und Umwelt. Sie ist somit einer Vielzahl von äußeren Einflüssen, wie ultravioletter UVB- und UVA-Strahlung sowie Ozon ausgesetzt, die oxidativen Stress verursachen. Im Alltag ist die Gesichtshaut den stärksten UV-Belastungen ausgesetzt, da diese im Gegensatz zum restlichen Körper meist unbedeckt ist. Unklar ist derzeit, welche antioxidativen Abwehrmechanismen insbesondere die exponierte Haut von den weniger exponierten anatomischen Regionen unterscheidet.

Die Aktivität der Talgdrüsen und die Talgproduktion sind hormon- und altersabhängig. Erst kürzlich wurde der Transportweg für α -Tocopherol via Sebum auf die Hautoberfläche verifiziert. Inwieweit diese Abhängigkeiten auch für den α -Tocopherolgehalt gelten, wurde bisher nicht erforscht. Die bisher publizierten Studien liefern keine physiologischen Daten zum α -Tocopherolgehalt des Sebums bei Minderjährigen. In der Literatur wird α -Tocopherol als Antioxidans eine Schutzwirkung gegen oxidative Umwelteinflüsse, wie z. B. UV-Strahlung, zugeschrieben. Ziel dieser Arbeit war die Beantwortung der Frage, ob α -Tocopherol bereits im kindlichen Sebum vorhanden ist und ob seine Produktion analog zur Talgdrüsenaktivität in verschiedenen Altersklassen variiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde dazu Sebum von 280 Probanden im Alter von 0-50 Jahren untersucht und verschiedene Altersgruppen miteinander verglichen. Das Sebum wurde von der Stirn mittels Sebutape[®] unter standardisierten Bedingungen gesammelt. Nach Extraktion und Aufarbeitung des Sebums wurde der Gehalt von α -Tocopherol und Squalen als Leitlipid im Sebum mittels HPLC (high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) bestimmt. Diese Ergebnisse wurden den unterschiedlichen Altersgruppen zugeordnet und die Gruppen miteinander verglichen.

In der vorliegenden Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass α -Tocopherol in allen untersuchten Altersgruppen im Sebum vorhanden ist. Darüber hinaus fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen bezüglich des α -Tocopherol- und Squalengehaltes im Sebum.

2 Einleitung

Es sollte der Frage nachgegangen werden, ob α -Tocopherol bereits im kindlichen Sebum vorhanden ist und ob seine Produktion analog zur Talgdrüsenaktivität in verschiedenen Altersklassen variiert.

2.1 Anatomie und Aufbau der menschlichen Haut

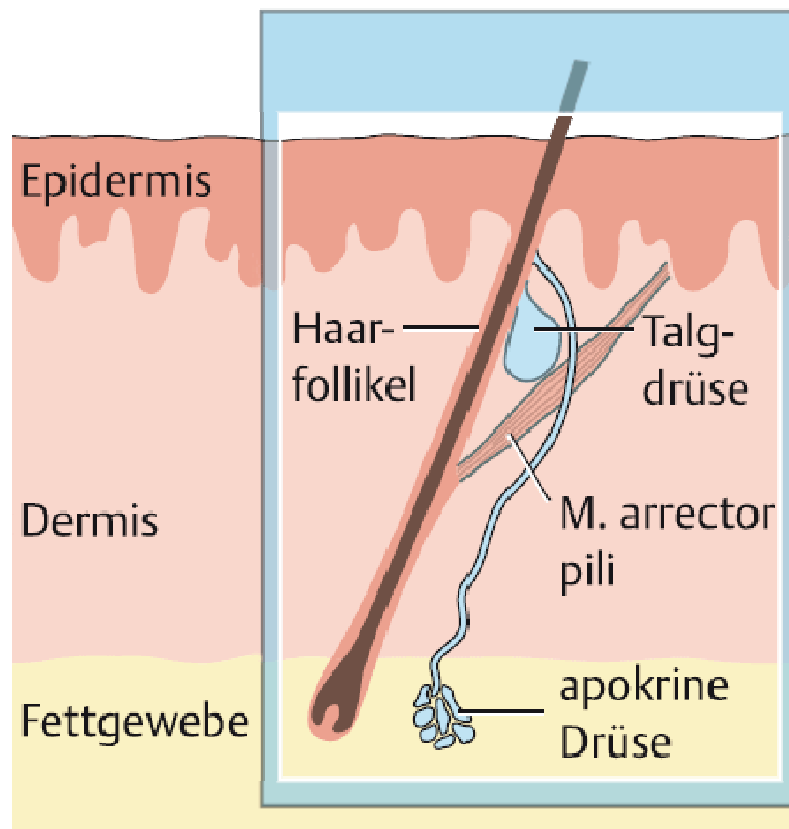


Abbildung 1: Schematischer Hautquerschnitt mit Epidermis, Dermis und Subcutis, modifiziert nach (Sterry et al. 2010)

Die Haut ist das größte und schwerste Organ des Menschen. Sie ist aus mehreren Schichten aufgebaut.

Epidermis und Dermis bilden zusammen die Cutis, darunter liegt die Subcutis, diese enthält Fett- und lockeres Bindegewebe und stellt die Verbindung zur angrenzenden Muskulatur dar (Abbildung 1). An der Grenze zur darüberliegenden Dermis liegt der untere Gefäßplexus sowie die Haarfollikel. Die Dermis besteht aus Bindegewebe, das für die Reißfestigkeit und Elastizität der Haut verantwortlich ist. In der Dermis befinden sich

außerdem Schweiß- und Talgdrüsen, in ihr verlaufen Nervenbahnen, Blut- und Lymphgefäße und sie enthält Sinneszellen (Berührungs- und Druckrezeptoren). Zelluläre Bestandteile der Dermis sind die Fibroblasten, die Orte der Glukosaminoglykanproduktion, der Kollagen- und Elastinsynthesen, sowie immunologisch aktive Mastzellen, Makrophagen und Lymphozyten. In der oberen Dermis befindet sich der oberflächliche Gefäßplexus. Unterer und oberflächlicher Gefäßplexus sind durch vertikal verlaufende Gefäße miteinander verbunden. Dieses Gefäßsystem ist nicht nur für die Hautversorgung, sondern auch für die Thermoregulation verantwortlich. Die Dermis ist mit der darüber befindlichen Epidermis wellenförmig verzahnt. Zu den Aufgaben der Epidermis werden vorrangig Barriere- und Schutzfunktionen gezählt. In der menschlichen Epidermis lassen sich lichtmikroskopisch fünf Schichten unterscheiden. Keratinozyten unterschiedlicher Differenzierungsstadien bilden diese Schichten. Die Keratinozyten, die zur Hautoberfläche hin immer flacher werden, enthalten durchgängig Keratinosomen.

Dabei handelt es sich um Vesikel, die „geldrollenartige“ (Landmann 1991) Stapel von Lipiddoppelschichten enthalten. Die keratinosomalen Lipide werden in den Keratinozyten des Stratum granulosum synthetisiert. Vom Golgi-Apparat werden sie als Vesikel abgeschnürt. Sie setzen sich vorwiegend aus Sterolen, Sphingolipiden und freien Fettsäuren zusammen. Die Keratinosomen wandern, während die Keratinozyten das Stratum granulosum durchlaufen, an den apikalen Zellpol und verschmelzen schließlich mit der Zellmembran, wobei ihr Lipidinhalt in den Interzellularraum exozytiert wird. In der äußeren Epidermisschicht, dem Stratum corneum (Hornschicht), haben die Keratinozyten das Ende ihres Differenzierungsprozesses erreicht. Sie werden dann als Corneozyten bezeichnet. Bei den Corneozyten handelt es sich um abgestorbene keratinhaltige Zellreste, die von einer Hornhülle umschlossen sind. Die Corneozyten sind in dichte multilamellare interzelluläre Lipidschichten eingebettet (Smith und Thiboutot 2008).

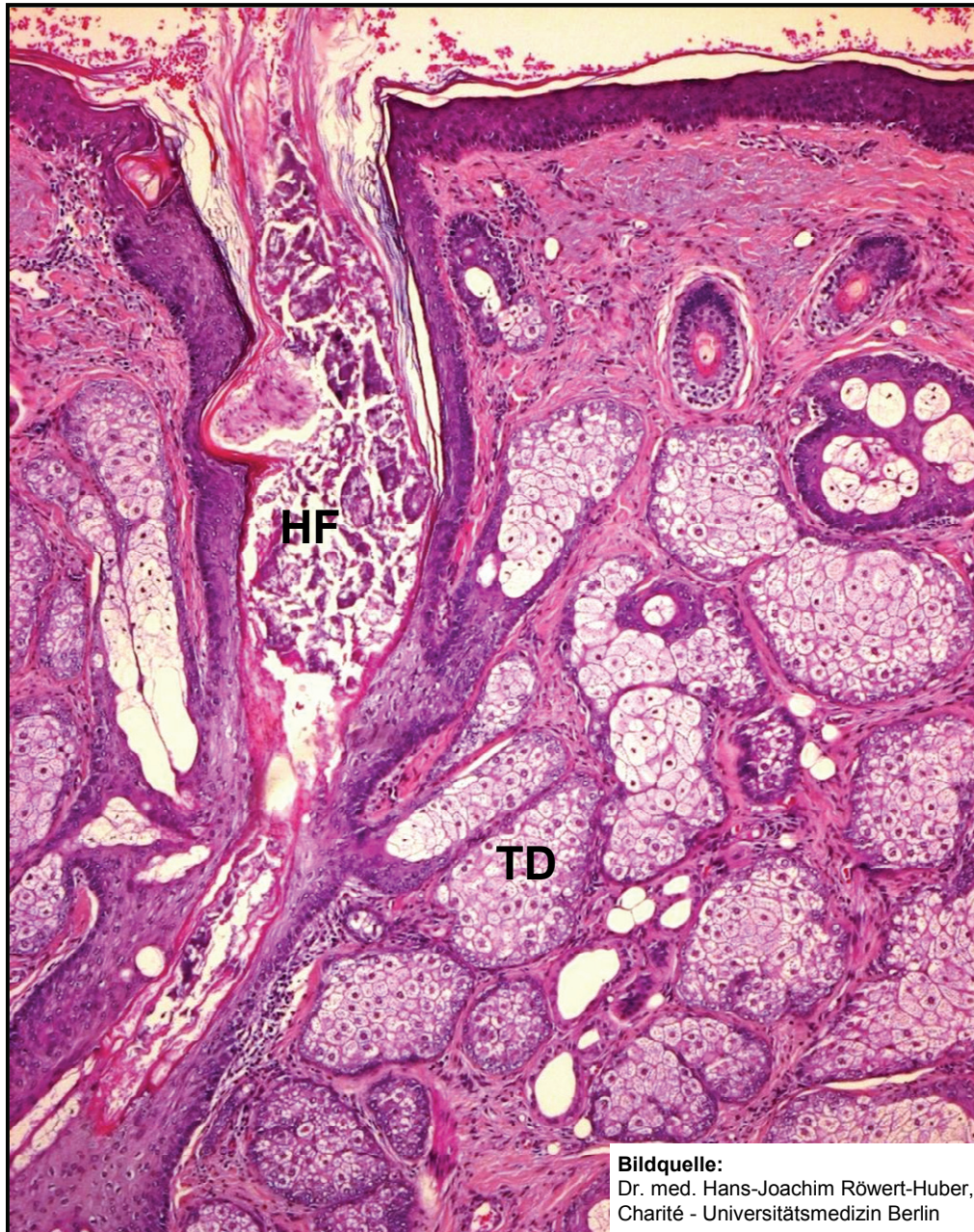


Abbildung 2: Histologischer Schnitt durch Haarfollikel (HF) und assoziierte Talgdrüse (TD)

Der Follikelapparat (vgl. Abbildung 2) besteht aus dem Haarbalg (Follikel) mit trichterförmiger Öffnung, dem Haarschaft und der im tiefen Corneum, also im unteren Drittel der Lederhaut, verankerten Haarwurzel. Außerdem gehören zum Follikelapparat eine Talgdrüse im oberen Corium, die in den Follikel mündet, ein glatter Muskel sowie ein Gefäß- und Nervennetz zur Versorgung der einzelnen funktionalen Einheiten.

Die menschliche Haut hat eine bedeutende Barrierefunktion, ihre Schichten werden auf unterschiedliche Weise von Umwelteinflüssen beeinträchtigt. Im Bereich der Hautoberflächenlipide und des Stratum corneums kommt es zur Depletion von Antioxidantien, diese geht der oxidativen Schädigung von Proteinen und Lipiden sowie der biophysikalisch messbaren Barriestörung voraus. Sekundäre Oxidationsprodukte induzieren Signalkaskaden in tieferen Hautschichten.

Im Falle einer Kapazitätserschöpfung des hauteigenen antioxidativen Netzwerks durch einen nutritiven oder pathogenen Faktor einerseits, sowie der verstärkten Bildung von ROS durch äußere (z. B. UV-Strahlung) oder innere (z. B. Alterungsprozesse) Faktoren andererseits, kommt es zum sogenannten „oxidativen Stress“ (Sies 1986), vergleiche Abbildung 3.

Dem Squalen- und α -Tocopherol-Gehalt im Sebum sowie deren Mengenverhältnis gilt das spezielle Interesse dieser Arbeit. Dabei liegt ein Schwerpunkt im Vergleich verschiedener Altersgruppen und damit altersabhängiger Unterschiede.

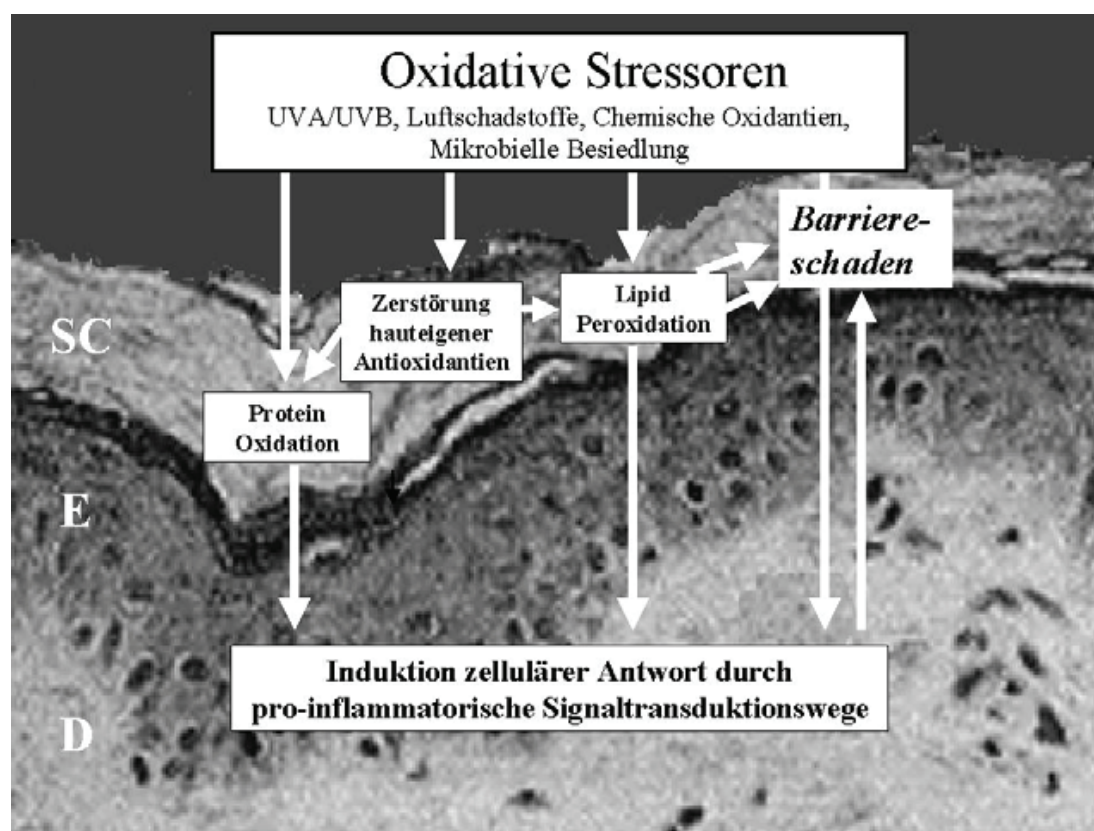


Abbildung 3: Aufbau der Hautbarriere, Angriffspunkte des oxidativen Stresses, modifiziert nach (Thiele 2003)

SC: Stratum corneum, E: Epidermis, D: Dermis

2.2 *Stratum corneum und Hautbarriere*

Endprodukt der epidermalen Differenzierung ist das etwa 10-20 µm dicke Stratum corneum (Hornschicht). Es besteht aus ca. 15-20 Lagen stark abgeflachter Corneozyten, die eine hexagonale Form mit einer Länge von 35-45 µm und einer Dicke von 0,5-1,5 µm aufweisen (Plewig und Marples 1970, Mackenzie und Linder 1973). Die Corneozyten sind in einer bilamellären Lipidmatrix eingebettet. Das Innere der Corneozyten weist quervernetztes Keratin auf, das in eine amorphe Grundsubstanz aus cystin- und prolinreichen Proteinen eingelagert ist (vgl. Abbildung 3).

Anstelle der üblichen Plasmamembran werden die Corneozyten nach außen hin durch eine 7-15 nm dicke Hornhülle, den „cornified envelope“, abgegrenzt. Sie besteht unter anderem aus durch Transaminasen vernetzten glutaminreichen Proteinen wie dem Involucrin (Simon und Green 1984) und dem Keratolinin (Fritsch 1990), an die kovalent Lipide gebunden sind (Swartzendruber et al. 1987), und stellt den chemisch widerstandsfähigsten Teil der Corneozyten dar. Die Struktur des Stratum corneum wird häufig mit einem Backstein-Mörtel-System verglichen, dem so genannten „mortar-brick model“ (Elias 1983), bei dem die Corneozyten als Backsteine für die chemische und mechanische Stabilität der Haut zuständig sind und der interzellulären Lipidmatrix, dem Mörtel, die eigentliche Barrierefunktion hinsichtlich Wasserhomöostase und dem Eindringen fremder Substanzen zugeschrieben wird. Dieser Mörtel besteht aus hocheffektiven Barrierschichten, multiplen Lipiddoppelschichten („Lipid-Bilayers“), die ähnlich wie die Zellmembranen eine typische doppelschichtige Membranstruktur besitzen. Die interzelluläre Lipidmatrix besitzt hydrophoben Charakter und ist nahezu wasserundurchlässig, wobei die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Lipide wichtig ist und erheblich durch Nahrungsfaktoren beeinflusst wird. So führt beispielsweise ein Mangel an essentiellen Fettsäuren (essential fatty acid deficiency = EFAD) wie der Linolsäure, die auch Bestandteil der Stratum corneum-Lipide ist, zu einer starken Zunahme der Permeabilität des Stratum corneum mit einer 5- bis 8-fachen Erhöhung des TEWL (transepidermal water loss, transepidermaler Wasserverlust) und einer fehlerhaften Differenzierung der Corneozyten (Lowe und Stoughton 1977, Elias et al. 1980). Eine topische und systemische Supplementierung der fehlenden Fettsäure resultiert in einer Verbesserung der Hautsymptome (Prottey et al. 1975, Hansen und Jensen 1985). Für einige humane Hautkrankheiten werden ebenfalls Störungen im Lipidstoffwechsel der Haut als Ursache postuliert. Paige et al. konnten zeigen, dass bei

verschiedenen Formen der Ichthyose ein Mangel an bestimmten Acylceramidfraktionen zu erkennen ist (Paige et al. 1994). Motta et al. beobachteten eine Veränderung in der Verteilung der Ceramide bei psoriatischen Patienten (Motta et al. 1994). Des Weiteren führt eine Entfernung der Hautlipide durch Extraktion mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln ebenfalls zu einer Erhöhung der Permeabilität des Stratum corneum mit einem deutlichen Anstieg des TEWL (Smith et al. 1982). Durch diese und zahlreiche andere Untersuchungen wurde somit die Bedeutung der interzellulären Lipide für die Barriereigenschaften der Haut eindeutig belegt. Das SC enthält keine lebenden Zellen und wurde daher vielfach als „tote Hornschicht“ und damit rein physikalische Schutzbarriere charakterisiert. Andere wissenschaftliche Studien zeigen jedoch, dass Verletzungen der Hautbarriere in der Epidermis durchaus auch biologische Reaktionen wie Induktion von inflammatorischen Signaltransduktionskaskaden und Genregulation hervorrufen (Smith et al. 1982). Damit kommt der Erhaltung der Barriereintegrität über die rein physikalische Funktion auch eine dynamisch-biologische Rolle zur Aufrechterhaltung wichtiger epidermaler Homöostasefunktionen zu (Thiele 2003).

2.3 Sebum und Hautoberflächenlipide, Zusammensetzung und Biosynthese von Sebum

Das von den Talgdrüsen produzierte Sebum ist eine komplexe Mischung von Lipiden, die zwischen den verschiedenen Spezies stark variieren. Der Begriff Sebum ausschließlich für Produkte der Talgdrüsen reserviert. Die Analyse von menschlichem Sebum wird durch etliche Faktoren erschwert. Die erste Schwierigkeit ist, dass der oberflächliche Lipidfilm, der sich auf der Haut befindet, nicht nur aus Sebum besteht sondern auch aus Lipiden der Epidermis und möglicherweise auch Lipiden aus ekkrinen Drüsen. Zusätzlich macht das sezernierte Sebum verschiedene Veränderungen auf dem Weg zur Hautoberfläche durch. Dies geschieht auf dem Weg durch die Ausführungsgänge und auch auf der Hautoberfläche, z. B. durch bakterielle Lipaseaktivität. Einige Bestandteile wie z. B. Kohlenwasserstoffe können auch von externen Umweltquellen kommen (Rook/Wilkinson/Ebling 1998). In Hautregionen mit hoher Talgdrüsendichte, wie der Stirn oder der Nasolabialregion, wird das Stratum corneum von einem hochlipophilen Film, den Hautoberflächenlipiden, bedeckt. Hautoberflächenlipide entstammen zum einen aus epidermalen Lipiden und zum anderen aus Sebum (Talg). Sebum wird in den dermal gelegenen Talgdrüsen gebildet und über den Haarfollikelkomplex an die

Hautoberfläche sezerniert (Wertz und Downing 1991). Morphologie und Aktivität der Talgdrüsen sind abhängig vom Lebensalter. Einer hohen initialen, androgenabhängigen Sebumsekretion bei Neugeborenen folgt eine Pause der Sebumsekretion während der Kindheit. Während der Pubertät steigt die Talgproduktion wieder stark an und erreicht ein Maximum beim jungen Erwachsenen. Talgdrüsen produzieren Sebum mit einem holokrinen Prozess, beginnend mit der Proliferation von basaloiden Zellen, die sich in der Peripherie der Acini und in den transglandulären Trabekeln befinden (Plewig und Christophers 1974). Die Zellen wandern dann Richtung Drüsenöffnung und vergrößern sich während der Lipidsynthese auf das bis zu 150-fache ihres Ausgangsvolumens. Schließlich rupturiert die Zellwand. Die Lipide und Zellüberreste gelangen in den Talgdrüsengang und weiter zum Haarinfundibulum. Die gesamte Transitzeit der Sebozyten innerhalb der Drüse beträgt 2-3 Wochen (Plewig und Christophers 1974, Downing und Strauss 1982). Es dauert ungefähr eine weitere Woche ehe das Sebum die Hautoberfläche erreicht.

Das Haarinfundibulum ist ein Reservoir, das beträchtliche Mengen an Sebum speichern kann (Kligman und Shelley 1958). Dieses Reservoir beeinflusst die Menge des Sebumtransportes zur Hautoberfläche, das Stratum corneum kann dabei als Schwamm angesehen werden, der Sebum speichert und Lipide resorbiert (Pochi et al. 1970). Wenn man das zuvor Genannte betrachtet, so ist die Menge des an der Hautoberfläche gesammelten Sebums von vielen Variablen abhängig und reflektiert nicht allein die metabolischen Vorgänge in der Talgdrüse. Die Größe und Aktivität der Talgdrüsen verändert sich mit der Zeit. Die Drüsenaktivität wird stimuliert durch die Wirkung von Androgenen und anderen Hormonen. Ein Anstieg der Sebumproduktion ist auffällig vor der Pubertät, er geht dem Auftreten von sekundären Geschlechtsmerkmalen um Monate voraus. Die Drüsenaktivität steigt weiter an, wenn sich Akne entwickelt. Bei normalen Individuen folgen Talgdrüsen komplexen Sekretionsrhythmen (Pierard et al. 2000). Die Aktivität der Talgdrüsen beeinflusst die Menge und Art der Mikroorganismen, die sich im Infundibulum und an der Hautoberfläche finden (Kearney et al. 1984). Die sebumreichen Poren liefern ein anaerobes Milieu für Mikroorganismen und Parasiten wie *Propionibacterium* spp., *Malassezia* spp. und *Demodex mites* (Pierard et al. 2000). Natives Sebum ist zusammengesetzt aus Triglyceriden, Wachsestern, Squalen und Cholesterolestern. Das qualitativ charakteristische Lipid des Talges ist Squalen, ein

Terpenoid und Präkursor des Cholesterins; seine Hauptmasse sind jedoch Wachsester und verschiedene Triglyceride (vgl. Tabelle 1).

Lipide	Sebum	Epidermale Oberflächenlipide
Triglyceride, Diglyceride und freie Fettsäuren	57 %	65 %
Wachsester	26 %	nicht zutreffend
Squalen	12 %	nicht zutreffend
Cholesterol	2 %	20 %

Tabelle 1: Zusammensetzung von Sebum und epidermalen Lipiden, übersetzt nach (Smith und Thiboutot 2008)

Während des Transits an die Hautoberfläche wird die Sebumbeschaffenheit durch oxidative Prozesse und biologische Zersetzung durch Mikroorganismen beeinflusst (Saint-Leger 1982, Saint-Leger et al. 1986). Epidermale Lipide mischen sich mit dem Sebum und bilden gemeinsam den punktuellen oder kontinuierlichen Lipidfilm, der das Stratum corneum bedeckt. Variation in der Sebumproduktion und Einnahme von Medikamenten (z. B. Retinoide, Antibiotika) sind vermutlich mit Veränderungen der Zusammensetzung des Sebums verbunden (Pablo und Fulton 1975), die ihrerseits dann die Verhornung am Infundibulum beeinflussen könnte und damit eine Schlüsselrolle in der Komedonenentstehung spielte (Downing et al. 1986, Letawe et al. 1998).

2.3.1 Physiologie der Hautoberflächenlipide

Epidermale Lipide bestehen aus Cholesterolestern, freiem Cholesterol, Cholesterolsulfat, Ceramiden, Triglyceriden und deren Spaltprodukten wie freien Fettsäuren. Squalene und Wachsester werden hauptsächlich von Talgdrüsen sezerniert. Triglyceride dagegen kommen sowohl von den Talgdrüsen als auch von der Epidermis. Das freie Cholesterol kann weitgehend den epidermalen Lipiden und weniger den Talgdrüsenlipiden zugerechnet werden.

Die Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide in talgdrüsenreichen Körperregionen gleicht am ehesten den Sebumlipiden. In talgdrüsenarmen Körperregionen spiegelt sich dagegen der Aufbau der epidermalen Lipide wider (Schürer 1993). Die Stirnregion, an

der wir die Sebumproben gesammelt haben, gehört zu den vellushaarreichen und damit zu den talgdrüsenreichen Regionen (siehe Tabelle 2).

Es gibt derzeit zwei mögliche Erklärungsansätze für den hohen Anteil an Squalen im menschlichen Sebum. Zum einen könnte die Bildung von Squalen erhöht sein, da das Level der Squalensynthese durch das Milieu in den Talgdrüsen beeinflusst wird und durch die dort vorhandenen Transskriptionsfaktoren. Der andere Ansatz fokussiert auf den Umbau von Squalen zu Cholesterol. Das Enzym Squalenoxidocyclase benötigt molekularen Sauerstoff, um die Umbaureaktion zu katalysieren, in den Talgdrüsen herrscht jedoch ein anaerobes Milieu (Smith und Thiboutot 2008).

Körperregion	Otberg et al. (2004)	Pagnoni et al. (1994)	Blume et al. (1991)	Seago und Ebling (1995)	Scott et al. (1991)
Laterale Stirn	292	455	414 ♀ 432 ♂	-	-
Nasenspitze	-	1112	-	-	-
Nasenflügel	-	1220	-	-	-
Periauriculäre Region	-	499	-	-	-
Rücken	29	-	93 ♀ 90 ♂	-	-
Thorax	22	-	-	-	-
Abdomen	-	-	-	-	6
Oberarm	32	-	-	17-19	-
Unterarm	18	-	-	-	-
Oberschenkel	17	-	-	14-20	-
Wade	14	-	-	-	-

Tabelle 2: Vellushaardichte (pro cm²) in verschiedenen Körperregionen, modifiziert nach (Otberg et al. 2004)

2.4 Funktion von Sebum auf der Haut

Man kann annehmen, dass die Bedeutung der Talgdrüsen für die Entstehung von Krankheiten häufig übersehen wird. Die Behauptung, dass eine gewisse Störung der

Talgdrüsenfunktion bei jeder Hauterkrankung vorhanden ist, sollte weiter hinterfragt werden (Way 1931).

Der menschliche Talg dient zusammen mit den Hautoberflächenlipiden, insbesondere in den nichtbehaarten Körperregionen, als Austrocknungsschutz der Haut. Dabei ist das Sebum an Vorgängen wie der Abstoßung von Hautschuppen, der Regulation von transepidermale Wasserverlust sowie der Bereitstellung von Substraten für die epidermale Vitamin-D-Synthese beteiligt.

Zu den Funktionen des Sebums gibt es bisher viele Spekulationen, jedoch leider wenig konkrete überprüfbare Angaben. So kann Sebum z. B. als Pflegemittel (emollient) und Weichmacher (plasticizer) des Stratum corneum dienen (Downing et al. 1986). Bezüglich der pflegenden Funktion von Sebum zeigten Fluhr et al. am Beispiel von Asebia-Mäusen, die u. a. einen Talgdrüsenmangel aufweisen, dass das Glycerin aus den Talgdrüsen einen wichtigen Beitrag zur Hydratation des Stratum corneum leistet (Fluhr et al. 2003).

Die Hydratation von talgdrüsenreichen und talgdrüsenarmen Körperregionen beim Menschen korreliert mit dem Glyzeringehalt. Die Glyzerinlevel sind im Stratum corneum der talgdrüsenreichen Regionen signifikant höher als in dem der talgdrüsenarmen (Choi et al. 2005).

Sebum transportiert außerdem lipophile Komponenten, wie z. B. das Antioxidans Vitamin E, zu den oberflächlichen Schichten der Epidermis. Es bleibt zu bedenken, dass Komponenten des Sebums, so wie andere Substanzen, zum Teil im Stratum corneum festgehalten werden können (Pochi et al. 1970, Pierard-Franchimont et al. 1999). Ein Teil des Sebums ist frei im Infundibulum und an der Hautoberfläche, ein anderer permeiert auf das Stratum corneum, bevor er dann metabolisiert und weiter resorbiert wird (Pierard et al. 2000). Squalen, ein 3-fach ungesättigtes Lipid, das in den Talgdrüsen synthetisiert wird, wird als Leitsubstanz des Sebums angesehen (Clarys und Barel 1995). Kürzlich wurden spezifische Redoxprozesse, wie die Oxidation von Linolensäure, für Sebozyten gezeigt, die gut mit deren Funktion und Differenzierung korrelieren (Pappas et al. 2002). Stefaniak et al. arbeiteten an der Entwicklung eines artifiziellen Sebums, dabei wollten sie ein Produkt herstellen, das in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung den Werten im menschlichen Sebum entspricht. Die Level aller verwendeten Lipide

blieben bei einer trockenen Lagerung bei 32 °C in Anwesenheit von Vitamin E stabil. Squalen oxidierte rasch in der Abwesenheit von Vitamin E (Stefaniak et al.).

Ryu et al. postulierten in ihrer Arbeit „Squalene as a Target Molecule in Skin Hyperpigmentation Caused by Singlet Oxygen“, dass Squalen das Hautlipid ist, das am schnellsten oxidiert wird. Des Weiteren beschrieben sie, dass Coproporphyrin ein potenter endogener Photosensibilisator für die Squalenperoxidation unter UVA-Exposition ist. Lokales Auftragen von Squalenperoxid verursachte in ihren Versuchen eine Hyperpigmentierung der Haut von Meerschweinchen. Aus ihren Ergebnissen leiteten sie ab, dass der Squalenperoxidbildung eine wichtige Rolle bei der lichtinduzierten Hautschädigung zukommt (Ryu et al. 2009).

Hautoberflächenlipide sind aufgrund ihrer Lage stärker als alle anderen Hautbestandteile der UVA- und UVB-Strahlung ausgesetzt (Parrish 1983), dennoch ist derzeit wenig über deren spezifische antioxidative Schutzsysteme oder Photooxidationsprodukte bekannt (Thiele 2003).

2.4.1 Faktoren, die die Sebumexkretion beeinflussen

Es existieren zahlreiche Arbeiten, die sich mit der Sebumsekretion beschäftigen. Einige von ihnen sind im Folgenden kurz erwähnt, um einen ungefähren Überblick des aktuellen Forschungsstandes zu geben. Ein zirkadianer Rhythmus wurde entdeckt (Verschoore et al. 1993, Burton et al. 1970a), bei dem die Sebumexkretion am mittleren Morgen am größten ist und am niedrigsten während des späten Abends und am frühen Morgen. Androgene haben einen großen Beschleunigungseffekt auf die Sebozytenproliferation und Sebumsekretion (Pierard et al. 1985, Pierard-Franchimont et al. 1991, Martignoni et al. 1997). Östrogene wirken entgegengesetzt zu den Androgenen, jedoch mit deutlich geringerer Potenz. Sie inhibieren die Synthese von Gonadatropin-releasing-hormone und setzen die Aktivität von 5- α -Reduktase herab. Wachstumshormon regt die Sebumproduktion an (Oakes et al. 1992, Deplewski und Rosenfield 1999).

Squalen könnte möglicherweise die rheologischen Eigenschaften von Sebum beeinflussen, da es das unpolarste Molekül des Sebums ist und auch das ungesättigste. Squalen ist ein potentieller Marker für Akneneigung, da es bei Aknepatienten deutlich stärker erhöht ist als die übrigen Sebumlipide und die absolute Sebummenge.

Aknepatienten in der Studie „Sebum analysis of individuals with and without acne“ hatten 1,6 mal mehr Sebum als die gesunden Kontrollgruppenprobanden und 2,2 mal mehr Squalen (Pappas et al. 2009).

Evgenia Makrantonaki et al. beschreiben in ihrem Artikel „An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne“ neue Erkenntnisse zur Rolle der Talgdrüsen und des Sebums in der Akneentstehung. Die Akneforschung hat in den letzten Jahren Dank der Entwicklung von Zellkulturmodellen und neuen molekularen Techniken große Fortschritte gemacht. Gesteigerte Sebumexkretion, Veränderung der Sebumlipidzusammensetzung und des Oxidantien-Antioxidantienverhältnisses sind wichtige Prozesse, die mit der Entstehung von Akne assoziiert werden. Seborrhoe kann nicht allein für die Entstehung von Akne verantwortlich gemacht werden, die Zusammensetzung der Sebumlipide ist von großer Bedeutung. Zu den Faktoren, die die Talgdrüsenfunktion und Sebumsekretion beeinflussen, zählen Histamine/Antihistamine, ein Histamin-1-Rezeptor wurde in menschlichen Sebozyten verifiziert. Retinoide zeigen einen antiproliferativen Effekt und inhibieren die Sebozytendifferenzierung sowie die Lipidsynthese. Hormone, insbesondere Sexualhormone und Wachstumshormone, beeinflussen ebenfalls die Sebumsekretion, z. B. spielt IGF-1 eine Schlüsselrolle bei der Induktion der Lipidsynthese menschlicher Sebozyten. Neuropeptide beeinflussen ebenfalls die Talgdrüsenzellen. In Aknehaut ist das komplette Corticotropin-Releasing-Hormon-System reichlich vorhanden, insbesondere in den beteiligten Talgdrüsen. Das System aktiviert möglicherweise inflammatorische Prozesse, die zu stressinduzierter Akneverstärkung führen. Weitere Neuropeptide mit Auswirkung auf die Sebozyten sind Melanocortin und Substanz P. Inflammation wird als Schlüsselrolle in der Entstehung von Akne angesehen. Es wurde viel darüber diskutiert, ob die Hyperkeratinisierung am Talgdrüsenausführungsgang dem Influx der inflammatorischen Zellen vorausgeht oder vice versa. Aktuelle Studien gehen davon aus, dass der letztere Fall zutreffend ist. Es konnte gezeigt werden, dass ein Anstieg der IL-1-Aktivität in der Umgebung von nicht betroffenen Follikeln vor der Hyperkeratinisierung stattfindet und die Aktivierung der Keratinozyten triggert. Dieses Zytokin könnte für die Inflammation und die daraus resultierende Keratinizytenproliferation verantwortlich sein und damit eine profunde Rolle bei der Transformation eines normalen Follikels in eine Akneläsion spielen. Leukotrienen wird ebenfalls eine wichtige Rolle in der Entstehung der Akne zugesprochen, humane Sebozyten verfügen über alle notwendigen Enzyme für einen

funktionellen Leukotrien-Pathway. Arachidonat-5-Lipoxygenase (5-LO), das Enzym, das für die Entstehung von Leukotrien aus Arachidonsäure verantwortlich ist, bietet eine neue therapeutische Ansatzmöglichkeit. Man geht von einer Induktion von Entzündungsmediatoren durch eine abnormale Kolonisation der Talgdrüsen durch *P. Acnes* bei Aknepatienten aus. Aktuelle Studienergebnisse lassen eine Mitwirkung der Talgdrüsen bei der Immunabwehr durch die Freisetzung von antimikrobiellen Peptiden vermuten. Z. B. wird humanes Beta-Defensin (hBD) in menschlichen pilosebaceous units exprimiert, und die Expression ist in Akneläsionen verstärkt. Des Weiteren scheinen freie Fettsäuren einen Anteil an den keimreduzierenden Eigenschaften der Haut zu haben. Diese scheinen sie durch direkte antimikrobielle Eigenschaften und durch Induktion von antimikrobiellen Peptiden zu besitzen. Insgesamt beschreiben Evgenia Makrantonaki et. al in ihrem Artikel damit eine Schlüsselrolle der Talgdrüsen bei der Initiation der Akne und zeigen damit neue Ansatzmöglichkeiten für zukünftige Therapien auf (Makrantonaki et al.).

Die Intensität von Seborrhoe und die androgener Alopezie stehen oft in einem Zusammenhang (Pierard-Franchimont und Pierard 1988). Als Folge der diversen hormonellen Einflüsse variiert die Sebumexkretion mit dem Alter (Cotterill et al. 1973, Cooper et al. 1976, Pochi et al. 1979, Agache et al. 1980, Jacobsen et al. 1985, Stewart und Downing 1985, Pierard et al. 1987b), dem Geschlecht (Cotterill et al. 1973, Cooper et al. 1976, Pierard et al. 1987b), Schwangerschaft (Burton et al. 1970b) und klimakterischer Periode (Callens et al. 1996). Darüber hinaus gibt es erhebliche Unterschiede zwischen Individuen des gleichen Alters und Geschlechts. Es scheint nicht die Menge des zirkulierenden Androgens zu sein, auf die es ankommt, sondern die Empfindlichkeit des Zielgewebes, die für die individuellen Unterschiede der Sebumexkretion verantwortlich ist. Vermutlich sind weitere Faktoren mitverantwortlich, die bisher nicht im Detail bekannt sind (Pierard et al. 2000). Sebumexkretionsrate und Follikelexkretionsrate nehmen nach der Geburt rapide ab und bleiben im Kindesalter niedrig (Cooper et al. 1976). Sie steigen zum Zeitpunkt der Adrenarche leicht an, wenn die Nebennierenrinde beginnt, Androgene zu sezernieren. Zu Beginn der Pubertät steigen sie als Antwort auf die Gonadenaktivität weiter an. Der Anstieg der Haut- und Haaröligkeit erreicht sein Maximum etwa zum Zeitpunkt des Erreichens der vollen Körpergröße. Die Sebumexkretionsrate und die Follikelexkretionsrate bleiben bis zur achten Dekade bei Männern hoch. Bei Frauen bleiben die Exkretionsraten bis zur

Menopause gleich. Während der klimakterischen Periode kann die Seborrhoe ansteigen oder stetig mit den Jahren abnehmen. Durch die Verwendung von lipidsensitiven Sebutapes[®] lassen sich bestimmte Unterschiede in der Sebumexkretion im Bezug auf Alter und physiopathologische Besonderheiten nachweisen (Pierard et al. 1987b).

Verschiedene Gruppen haben sich mit der Beeinflussung der Sebumzusammensetzung durch die Ernährung beschäftigt. Prolongiertes Fasten über fünf Tage vermindert die Produktion der Sebumlipide um ca. 40 %, davon ausgenommen Squalen, dessen Anteil damit prozentual steigt, und verändert ihre Zusammensetzung. Dies normalisiert sich nach Wiederbeginn der Nahrungsaufnahme (Downing et al. 1972).

2.5 Talgdrüsenvermittelter Vitamin-E-Transport an die Hautoberfläche

Untersuchungen von Thiele et al. lieferten überraschende Ergebnisse über die Vitamin-E-Konzentration der Gesichtshaut. Anfänglich vermuteten sie, dass die Vitamin-E-Konzentration aufgrund der starken Exposition des Gesichts gegenüber oxidativen Umwelteinflüssen dort niedriger sei als die des medialen Oberarmes, der weniger lichtexponiert ist. Messungen des Vitamin-E-Gehaltes des Stratum corneums zeigten das Gegenteil:

Der zuvor an anderen anatomischen Regionen entdeckte physiologische Vitamin-E-Gradient mit sehr niedrigen Konzentrationen im obersten Bereich des Stratum corneum war aufgehoben, die α -Tocopherol-Werte waren hier 20-fach erhöht gegenüber denen im Oberarmbereich (Thiele und Packer 1999). Es wurde ein Zusammenhang mit der erhöhten Talgdrüsendichte im Gesicht vermutet und daraufhin der Gehalt vom Vitamin E im Sebum von gesunden Probanden untersucht. Es zeigte sich eine konstante Sekretion von α -Tocopherol aus den Talgdrüsen, die sehr gut mit der Sekretion von Squalen korrelierte. Zusätzlich wurde der Stratum corneum-Gradient von Squalen im Gesicht mit demjenigen des Oberarmes verglichen. Dabei zeigte sich, dass Squalen offenbar sehr gut bis in das tiefe Stratum corneum repenetrierte, denn selbst in der untersten Stratum corneum-Schicht des Gesichts waren noch 17-fach erhöhte Squalenkonzentrationen nachweisbar. Schon bei sehr niedrigen, physiologisch relevanten UVA-Dosen kommt es zur Photooxidation von Squalen, die mit der Bildung von Squalenhydroperoxiden einhergeht (Ekanayake Mudiyansele et al. 2003b). Diese Photooxidation ist in Gegenwart von Vitamin E inhibierbar. Dies macht die protektive Rolle der hohen

physiologischerweise im Sebum vorkommenden Mengen an Vitamin E deutlich (Thiele 2003).

2.6 Umwelteinflüsse auf die menschliche Haut

Die menschliche Haut bildet die natürliche Schnittstelle zwischen Mensch und Umwelt. Sie ist somit einer Vielzahl von Umwelteinflüssen ausgesetzt.

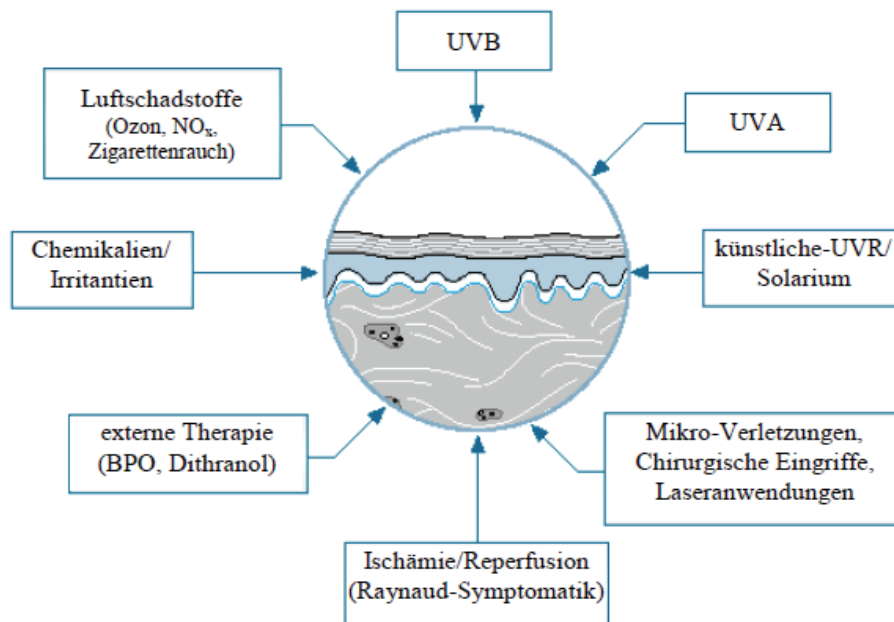


Abbildung 4: Auslösefaktoren für oxidativen Stress in der Haut (Thiele 2003)

Exogene Noxen wie solare ultraviolette Strahlung (UVB und UVA), Luftschadstoffe (z. B. Ozon) oder oxidative Substanzen, wie Benzoylperoxid (BPO), aber auch endogene Ursachen, wie Ischämie, gefolgt von Reperfusion beim Raynaud-Phänomen, generieren in der menschlichen Haut reaktive Sauerstoffspezies (Thiele 2003).

Die in Abbildung 4 beschriebenen Umwelteinflüsse wirken auf unterschiedliche physikalische und chemische Weise auf die Haut und den Hautstoffwechsel ein. In der Endkonsequenz jedoch bewirken exogene Noxen wie solare ultraviolette Strahlung (UVB und UVA), Luftschadstoffe (z. B. Ozon) oder oxidaktive Substanzen wie Benzoylperoxid (BPO), aber auch endogene Ursachen wie Ischämie, gefolgt von Reperfusion beim Raynaud-Phänomen in der menschlichen Haut die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies. Diese oxidativen Mechanismen spielen pathophysiologisch eine wichtige Rolle bei der Entstehung von UV-assoziierten Hauterkrankungen, wie z. B. der phototoxischen Dermatitis oder der Porphyrie (Gonzalez und Pathak 1996).

Zastrow et al. beschreiben erstmalig in „The missing link – light-induced (280-1,600 nm) free radical formation in human skin“ die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies durch sichtbares Licht und UV-Licht. Diese wurden mit Hilfe der Elektronenspinresonanzspektroskopie an Hautbiopsien gemessen. Sie bewiesen außerdem den Anstieg freier Radikale durch Wellenlängen nahe der Infrarotbestrahlung. Im Falle dieser Wellenlängen ist die Radikalbildung nicht allein dosisabhängig, sondern wird auch durch den strahlungsinduzierten Temperaturanstieg mitbedingt (Zastrow et al. 2009).

Darvin et al. haben in ihrer Studie „Formation of Free Radicals in Human Skin during irradiation with Infrared Light“ untersucht, ob die Infrarotstrahlung, die häufig zu therapeutischen Zwecken in der Medizin und im Wellnessbereich eingesetzt wird, auch zu einer Reduktion des antioxidativen Potentials der Haut führt und ob diese Reduktion durch reaktive Sauerstoffspezies verursacht wird. Sie konnten feststellen, dass unter Infrarotbestrahlung vermehrt freie Radikale gebildet werden. Dieser Effekt wurde in vivo mittels RRS (resonance raman spectroscopy) und durch EPR (electron paramagnetic resonance) Spektroskopie bestätigt (Darvin et al.).

Die Generierung „freier Radikale“ ist auch Grundlage zahlreicher dermatologischer Therapiestrategien, insbesondere bei der Phototherapie (UVA-1, UVB 311 nm, PUVA Therapie) und der topischen Externatherapie (Anthralin/Dithranol, Benzoylperoxid). Auch bei neueren therapeutischen Entwicklungen in der Dermatologie, wie beispielsweise der photodynamischen Therapie (PDT) sowie der extrakorporalen Photopherese (ECP), ist die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies notwendiger Bestandteil des Therapiekonzeptes (Fuchs und Thiele 1998).

2.6.1 Das antioxidative Netzwerk der Haut

Die Haut verfügt über ein komplexes Abwehrsystem, um sich vor der Schädigung wichtiger Biomoleküle durch „reaktive Sauerstoffspezies“ oder kurz „ROS“ (reactive oxygen species) zu schützen. Dieses besteht aus lipophilen und hydrophilen, enzymatischen und nicht-enzymatischen antioxidativen Komponenten und wurde als das „antioxidative Netzwerk der Haut“ bezeichnet (Thiele 2001, Thiele et al. 2001).

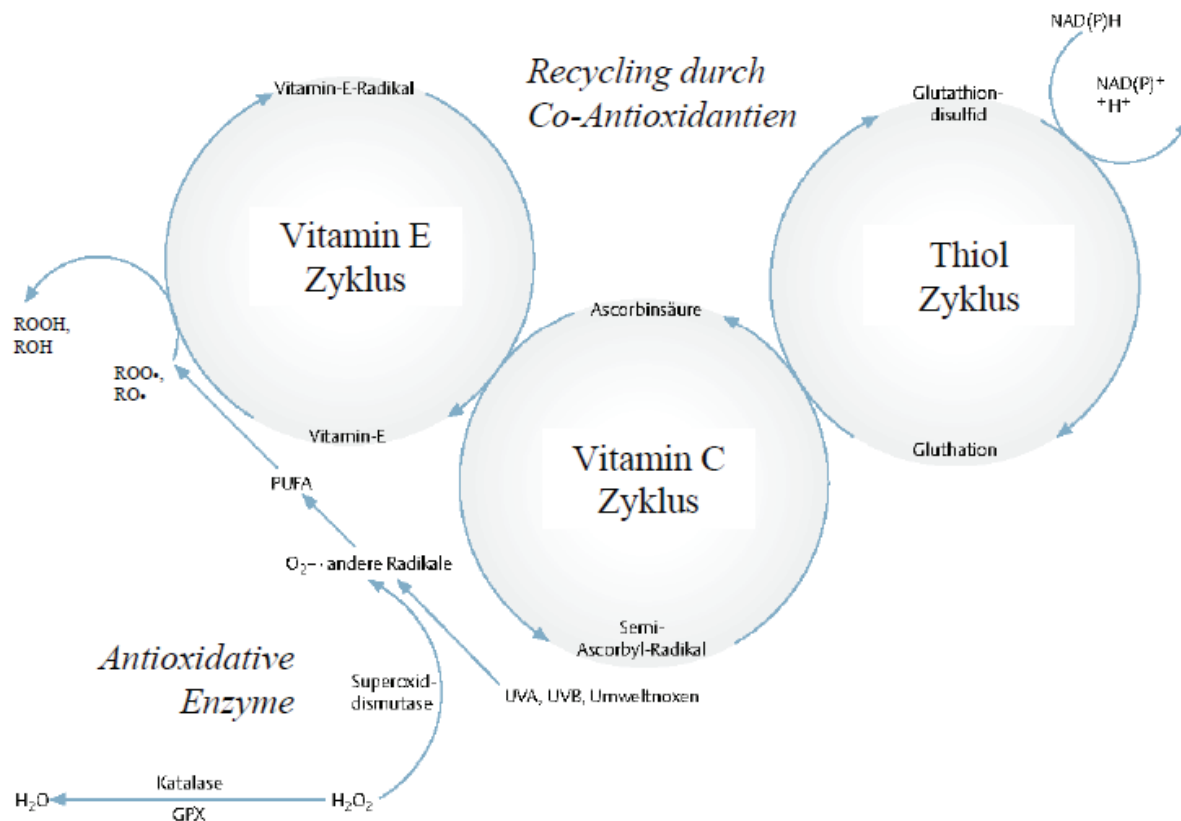


Abbildung 5: Vorherrschende Rolle von α -Tocopherol und sein Recycling durch Co-Antioxidantien (Thiele 2003)

Antioxidantien wie Vitamin C (Ascorbinsäure) und Vitamin E (eine Mischung aus 8 Tocopherol-Homologen, darunter α -Tocopherol als die biologisch dominierende Verbindung) fangen freie Radikale ab, dabei werden diese Antioxidantien allerdings selbst zu Radikalen und verlieren ihre antioxidative Potenz (Abbildung 5). Durch Wechselwirkungen mit anderen antioxidativen Systemen der Zelle oder des Gewebes können oxidierte Antioxidantien wieder reduziert werden. Damit werden sie in ihre nicht-radikalisch wirksame Form überführt und stehen wieder als Radikalfänger zur Verfügung. Zahlreiche Arbeiten, insbesondere aus der Gruppe um Lester Packer, Berkley, USA, haben gezeigt, dass das freie Radikal des Vitamin E (Tocopheroxyl- oder Chromanoxyl-Radikal) durch das Zusammenspiel verschiedener anderer Antioxidantien wie dem Vitamin C, dem Glutathion und dem Ubichinon (Coenzym Q 10) zum antioxidativ wirksamen Vitamin E „recycled“ wird (Thiele et al. 2001). Vitamin E nimmt dabei offenbar eine dominante, übergeordnete Rolle im antioxidativen Netzwerk der Haut ein (Fuchs 1992, Thiele et al. 2001).

2.7 Oxidativer Stress

Im Falle einer Kapazitätserschöpfung des hauteigenen antioxidativen Netzwerks durch einen nutritiven oder pathogenen Faktor einerseits, sowie der verstärkten Bildung von ROS durch äußere (z. B. UV-Strahlung) oder innere (z. B. Alterungsprozesse) Faktoren andererseits, kommt es zum sogenannten „oxidativen Stress“ (Sies 1986). Lipide, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren und Proteine als wichtige zelluläre und interzelluläre Makromoleküle werden durch Oxidation geschädigt und verlieren bzw. verändern dadurch ihre Funktion. Endprodukte von oxidativen Kettenreaktionen wie der Lipidperoxidation, darunter das Malondialdehyd und das 4-Hydroxynonenal, können auf die Zelle direkt zytotoxisch wirken oder inflammatorische Signaltransduktionswege induzieren.

2.8 Vitamin E/Tocopherol

2.8.1 Chemische Struktur

Vier natürliche Tocopherol-Isomere sind bekannt:

- *alpha* - Tocopherol $C_{29}H_{50}O_2$ is 5,7,8,-trimethyltolcol
- *beta* - Tocopherol $C_{28}H_{48}O_2$ is 5,8,-trimethyltolcol
- *gamma* - Tocopherol $C_{28}H_{48}O_2$ is 7,8,-trimethyltolcol
- *delta* - Tocopherol $C_{27}H_{46}O_2$ is 8,-trimethyltolcol

Von den natürlichen Tocopherolen besitzt α -Tocopherol die stärkste biologische antioxidative Aktivität in vivo (vgl. Abbildung 6), (Bunyan et al. 1961, Fryer 1993, Nachbar und Korting 1995, Yamauchi et al. 2001).

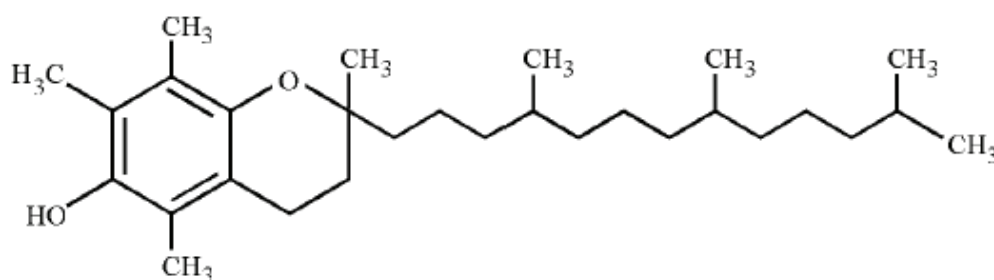


Abbildung 6: Chemische Strukturformel von α -Tocopherol

2.8.2 Physiologische Funktion und Wirkungsweise von Tocopherol

Vitamin E ist der Sammelbegriff für die Familie der fettlöslichen Tocopherole, die 1922 von Evans und Bishop in Berkeley entdeckt wurden. RRR- α -Tocopherol ist ein lipophiles essentielles Vitamin und muss somit dem Körper mit der Nahrung zugeführt werden. Zu seinen Funktionen zählen die Wirkungen als Coenzym in Zellmembranen und als Radikalfänger. Es ist bedeutsam für die Fruchtbarkeit und Fortpflanzung, schützt die Zelle vor Oxidation und ist an der Entstehung von roten Blutkörperchen beteiligt. In der Natur findet sich Tocopherol vorwiegend in Speiseöl, Sonnenblumenkernen, Mandeln, Nüssen, Margarine, Parmesan, Cheddar-Käse, Avocados, Karotten, Tomaten, Mais und Kartoffeln.

Birgit Kainz liefert in ihrem Bericht „Antioxidantien in Lebensmitteln - kritisch betrachtet“ einen umfassenden Überblick zur Tocopherolbedeutung im Nahrungs- und Lebensmittelbereich. Sie beschreibt Vitamin E als das derzeit bekannteste und effektivste in der Natur vorkommende fettlösliche Antioxidans. Bedingt durch die Fettlöslichkeit kann es sich in die Zellmembran einlagern und die ungesättigten Fettsäuren der Phospholipidmembran vor oxidativer Schädigung schützen. Während bei der in vivo-Lipidperoxidation das α -Tocopherol die schützende Wirkung hat, wirken in Lebensmitteln γ - und δ -Tocopherole effektiver. Nüsse gelten als reiche Quelle von Tocopherolen. Besonders reich an α -Tocopherol sind Haselnuss und Mandel, in den anderen Nussarten überwiegt γ -Tocopherol, wobei letzteres nur ein Viertel der biologischen Wirksamkeit von α -Tocopherol für die menschliche Ernährung besitzt (Kainz 2004).

Die Bedeutung von Tocopherol für den menschlichen Organismus und insbesondere für die Haut ist bisher nur ansatzweise erforscht. Bisherige Studien wiesen den Einfluss von Tocopherol auf die Zellintegrität, Zellimmunität, Apoptose, DNA-Schäden, maligne Zelltransformation und Signaltransduktionswege nach (Gensler und Magdaleno 1991, Claycombe und Meydani 2001). α -Tocopherol gilt als wirksamster Peroxid-Radikalfänger in Membranen und in Lipoproteinen (LDL) (Esterbauer et al. 1991). Es wirkt antioxidativ, indem es beispielsweise Peroxid-Radikale von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in Phospholipiden, Membranen oder in Lipoproteinen reduziert. α -Tocopherol ist im Plasma (Burton et al. 1982) und in roten Blutzellen (Burton et al. 1983) das wichtigste lipidlösliche Antioxidationsmittel, das die Lipide gegen peroxidative Schäden

zu schützen vermag. α -Tocopherol ist das vorherrschende Tocopherol-Isomer und macht ca. 90 % des Gewebe-Tocopherols aus (Sorg et al. 2001). Der Gehalt an α -Tocopherol in der menschlichen Epidermis liegt bei ca. 31-40 nmol/g, in der Dermis bei ca. 16 nmol/g (Shindo et al. 1994, Sorg et al. 2001). α -Tocopherol ist in der Lage, Lysosomen zu stabilisieren, die IL-2-Produktion zu erhöhen und mit Eikosanoiden zu interagieren, um die Prostaglandin-E₂-Synthese zu reduzieren, darüber übt es immunstimulierende und anti-inflammatorische Wirkungen aus (Diplock et al. 1989). Die Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen und Interleukin-1 β durch Hemmung des 5-Lipoxygenase-Reaktionsweges wird durch α -Tocopherol vermindert (Devaraj und Jialal 1999). Zelladhäsion und die O₂-Entstehung, die zentrale Prozesse bei Entzündungsgeschehen sind, können durch α -Tocopherol gehemmt werden (Kanno et al. 1995, Kanno et al. 1996, Cachia et al. 1998, Devaraj und Jialal 1999, Yoshida et al. 1999). Die antioxidative Wirkung von α -Tocopherol ist nicht sein einziger Wirkungsweg, weitere Wirkweisen wie die Induktion von Signaltransduktionswegen bzw. die Steigerung oder Hemmung der Transkriptionsaktivität in unterschiedlichen Zellen wurden untersucht. α -Tocopherol ist in der Lage, Alkalische Phosphatase-1 zu aktivieren. Dies geschieht unter der Bedingung, dass die Proteinkinase C gehemmt oder inaktiviert wird. Im Gegenzug findet eine Verhinderung der Alkalischen Phosphatase-1-Aktivierung durch α -Tocopherol statt, wenn die Proteinkinase C stimuliert wird. Diese Effekte lassen sich durch β -Tocopherol, das sehr ähnliche antioxidative Eigenschaften besitzt, nicht auslösen. Azzi et al. schlossen daraus, dass α -Tocopherol in glatten Muskelzellen durch Kontrolle von Signaltransduktionswegen wirken kann (Azzi et al. 1998). Summerfield und Tappel konnten zeigen, dass die totale und nicht-spezifische Transkriptionsaktivität in der Leber von Ratten höher war, wenn diesen 30 IU α -Tocopherolacetat pro Kilogramm Körpergewicht zugefüttert wurde (Summerfield und Tappel 1984). Auch Azzi et al. stellten fest, dass α -Tocopherol regulierend auf die Gen-Transkription wirken kann (Azzi et al. 1998). Durch α -Tocopherol wurde eine erhöhte Expression von α -Tropomyosin beobachtet (Aratri et al. 1999). Die Kollagen- α -1(I)Genexpression in der Leber konnte durch eine Langzeit- oder Kurzzeit-Supplementation mit α -Tocopherol gehemmt werden (Chojkier et al. 1998).

Unterschiedliche Forschungsgruppen untersuchten die Auswirkungen von α -Tocopherol und seiner Derivate auf verschiedene Zelllinien, wie z. B. humane Keratinozyten, Fibroblasten oder HaCaT-Zellen. Dabei wurden u. a. Auswirkungen auf die Morphologie,

DNA-Schäden, Signaltransduktionswege, Apoptose und Lipidperoxidation entdeckt. Eine Korrelation zwischen dem Redoxzustand der Zelle und der Sensibilität der Zelle für DNA-Schäden durch UV-Licht wurde beschrieben. HaCaT-Keratinocyten, die vor der UV-Bestrahlung mit einem durch α -Tocopherol supplementierten Medium versorgt wurden, wiesen signifikant weniger DNA-Schäden auf (Lehmann et al. 1998). Durch freie Radikale induzierte Chromosomenschäden konnten durch die verschiedenen Anwendungen von α -Tocopherol signifikant reduziert werden (Antunes und Takahashi 1998, Pincheira et al. 1999, Factor et al. 2000). Der Einsatz von Tocopherol kann die durch Wasserstoffperoxid induzierte Bildung von Hydroxylradikalen und sich daraus ergebende DNA-Basenpaar-Modifikationen in humanen oralen Epithelzellen reduzieren (Royack et al. 2000). Ebenso kann er die Wasserstoffperoxid-induzierten DNA-Strang-Brüche in einer humanen Hautzelllinie dezimieren (Slamenova et al. 1999). Peus et al. stellten in verschiedenen Studien fest, dass nach Bestrahlung von humanen Keratinocyten mit physiologischen UVB-Dosen folgende Aktivierungen durch ROS vermittelt worden waren: die Aktivierung des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptors (epidermal growth factor receptor = EGFR), die Aktivierung extrazellulär-regulierter Kinasen 1 und 2 (ERK 1 und 2) und die Aktivierung des p38-Signaltransduktionsweges (Peus et al. 1998, Peus et al. 1999a, Peus et al. 1999b). Peus et al. stellten außerdem fest, dass das wasserlösliche Tocopherol-Analogon Trolox in der Lage ist, sowohl die basale als auch die durch UVB-Licht induzierte intrazelluläre H_2O_2 -Bildung in Keratinocyten konzentrationsabhängig zu hemmen (Peus et al. 2001). Tyurina et al. beschrieben, dass Tocopherol die lipopolysaccharidinduzierte Apoptose in humanen Endothelzellen hemmen kann (Tyurina et al. 1997).

2.8.3 Effekt von topischer bzw. oraler Tocopherol-Supplementation beim Menschen

Eine orale Langzeitbehandlung für 235 Tage mit α -Tocopherol bei gesunden älteren Menschen (≥ 65 Jahre) bewirkt eine klinisch relevante Erhöhung der T-Zell-vermittelten Immunität. Niedrigere (60 mg/d) und höhere (800 mg/d) α -Tocopherol-Dosen waren der Einnahme von 200 mg/d unterlegen. Bei der mit α -Tocopherol behandelten Gruppe lagen die von den Probanden selbst dokumentierten Infektionen 30 % niedriger als in der Placebo-Gruppe. Meydani et al. kamen zu der Schlussfolgerung, dass es einen optimalen Dosisbereich für die immunstimulierenden Effekte von α -Tocopherol gibt. Sämtliche

Vitamingaben zeigten keinerlei unerwünschte Begleiterscheinungen (Meydani et al. 1997). Werninghaus et al. konnten in einer Langzeitstudie mit gesunden Probanden, die täglich α -Tocopherolacetat in einer Dosierung von 400 IU über einen Zeitraum von sechs Monaten zu sich nahmen, keinen wesentlichen Unterschied der minimale Erythem-Dosis und der Menge der produzierten Sonnenbrandzellen zwischen Verum- und Placebogruppe feststellen. Es war außerdem kein signifikanter Unterschied der Plasmakonzentrationen von α -Tocopherol in den verglichenen Gruppen nach einem bzw. nach sechs Monaten zu sehen (Werninghaus et al. 1994). Der fehlende Unterschied könnte auf einem Verdünnungseffekt basieren, da die Untersuchung des α -Tocopherol-Gehaltes der Haut an kompletten Stanzbiopsien durchgeführt wurde. Die topische Applikation von α -Tocopherol in Lichtschutzprodukten wurde an menschlicher Haut untersucht, da eine Wirkungsverstärkung chemischer oder physikalischer Lichtschutzmittel durch Antioxidantien möglich erscheint. Dreher et al. untersuchten in ihrer in vivo-Studie die photoprotektive Wirkung einer alkoholischen Lotion, die 2 % α -Tocopherol enthielt. Diese Lotion wurde 30 Minuten vor UV-Bestrahlung mit einer Dosis von 2 mg/cm^2 auf die Haut aufgetragen. Den ermittelten photoprotektiven Effekt dieser Lotion führten sie auf die antioxidativen Eigenschaften des α -Tocopherols zurück (Dreher et al. 1998). Fuchs et al. konnten darlegen, dass α -Tocopherol oral eingenommen in einer Dosierung von 2 g pro Tag über 50 Tage lang kombiniert mit Ascorbinsäure die Sonnenbrandreaktion von gesunden Probanden reduziert. Der Lichtschutzfaktor lag dabei jedoch nur bei einem Wert von ca. 2. Eine alleinige α -Tocopherol- bzw. Ascorbinsäure-Supplementation zeigte keine signifikante Reduzierung der Sonnenbrandreaktion (Fuchs und Kern 1998). Eine Kombinationsbehandlung mit α -Tocopherol und Ascorbinsäure kann also synergistisch wirken und somit eine Wirkungssteigerung der Behandlung hervorrufen.

3 Ziele der Arbeit

Talgdrüsen verfügen über eine Fülle von Funktionen, und wir beginnen erst langsam, sie zu erfassen. Nicht bekannt ist bisher, welche physiologische Rolle Antioxidantien dabei einnehmen. Eine wichtige Bedeutung schreiben wir den Antioxidantien im Talgdrüsenprodukt, dem Sebum, zu. α -Tocopherol gilt z. Zt. als das wichtigste Antioxidans im Stratum corneum.

Ziel dieser Arbeit war es,

1. eine Altersabhängigkeit bezüglich des Sebumsqualenlevels an der Hautoberfläche nachzuweisen.
2. eine Altersabhängigkeit bezüglich des Sebum- α -Tocopherol-Levels an der Hautoberfläche nachzuweisen.
3. eine Altersabhängigkeit des antioxidativen Schutzpotentials basierend auf der Ratio von Squalen zu α -Tocopherol zu belegen.

Diese Arbeit beschäftigt sich in ihrem Schwerpunkt mit dem altersabhängigen Unterschied im α -Tocopherol-Gehalt des Sebums. Ein weiterer Schwerpunkt dabei ist das Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen. Squalen ist ein Hauptbestandteil des Hauttalges und gilt als Markerlipid für das menschliche Sebum. Anhand des messbaren Squalens im Sebum lassen sich Rückschlüsse auf die Talgdrüsenaktivität ziehen. Neben dem Squalen wurde α -Tocopherol im Sebum entdeckt und von Thiele et al. als wichtigstes Antioxidans der Hautoberflächenlipide beschrieben.

Da die Talgdrüsen zwischen Geburt und Pubertät nur sehr geringe Aktivität zeigen, stellt sich die Frage, ob α -Tocopherol auf der Hautoberfläche von präpubertären Kindern nachweisbar ist und um welche Mengenunterschiede es sich handelt, wenn man verschiedene Altersgruppen vergleicht.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Grundlagenstudie, deren Ziel die quantitative Erfassung altersabhängiger Unterschiede im Sebum- α -Tocopherol-Gehalt ist. Altersspezifische Unterschiede könnten Hinweise auf neue Therapiestrategien für Hauterkrankungen bestimmter Altersgruppen liefern, z. B. neue antioxidative Strategien in der Aknetherapie. Neue Erkenntnisse zur Rolle von Antioxidantien und oxidativem Stress bei der altersabhängigen Zusammensetzung des humanen Gesichtsebums könnten

unter anderem zur Entwicklung wirksamerer Hautschutzprodukte für unterschiedliche Lebensabschnitte und Hauttypen beitragen.

4 Methodik (Material und Methoden)

Die Probensammlung wurde am Children's Memorial Hospital in Chicago, Illinois, USA durchgeführt. PD Dr. med. Jens Thiele war von der Hautklinik der Universität Jena an die Northwestern University in Chicago gewechselt, um dort seine Forschung fortzusetzen und zeitgleich die Ausbildung zum Dermatologen nach amerikanischen Standards absolvieren zu können, die er inzwischen abgeschlossen hat. Die Sammlung erfolgte im Rahmen der kinderdermatologischen Sprechstunde. Die Proben wurden in den Monaten April bis November 2004 gesammelt.

4.1 Patienten/Probanden

Insgesamt wurden 280 Probanden in diese Studie eingeschlossen. Diese setzten sich aus 143 weiblichen und 137 männlichen Teilnehmern im Alter von 0-50 Jahren zusammen. Altersabhängig wurden die Probanden den folgenden Gruppen zugeordnet:

Gruppe A, „Säuglinge“: 0-6 Monate; weiblich oder männlich

Gruppe B, „Kleinkinder“: 7 Monate bis 5 Jahre; weiblich oder männlich

Gruppe C, „Kinder“: 6-10 Jahre; weiblich oder männlich

Gruppe D, „Jugendliche“: 11-19 Jahre; weiblich oder männlich

Gruppe E, „Erwachsene“: 20-50 Jahre; weiblich oder männlich

Die Definition dieser Altersgruppen basiert einerseits auf der vorhandenen Literatur über altersabhängige Veränderungen der Talgdrüsenaktivität (Zouboulis 2004) und andererseits auf generellen pädiatrischen Kriterien für die Einteilung von Entwicklungsstadien (Bogin 2002). Im Rahmen der Studie wurde der Tocopherolgehalt des Sebums in verschiedenen Stufen der menschlichen Entwicklung untersucht. Das spezielle Interesse galt α -Tocopherol als zentral wichtigem Antioxidans in der Haut.

Ziel war es, 100 Probanden pro Altersgruppe zu rekrutieren und jeweils vier Messungen pro Proband durchzuführen.

Einschlusskriterien:

- Bereitschaft, die Einverständniserklärung zu unterzeichnen, insbesondere Eltern für Minderjährige.

- Probanden ohne bekannte systemische Erkrankung, Ausnahmen stellen lokalisierte Hauterkrankungen dar, die nicht das Gesicht betreffen, wie z. B. Warzen, Naevi, Haemangiome oder Vitiligo.

Ausschlusskriterien:

- Xerosis cutis
- Gebrauch von Externa im Gesicht in den letzten 48 Stunden vor Probensammlung
- orale Supplementierung mit Vitamin E in den letzten zwei Monaten
- bekannte Allergien auf Handschuhe bzw. deren Komponenten wie z. B. Latex
- schwangere oder stillende Frauen
- generalisierte Dermatosen wie z. B. Psoriasis, atopisches Ekzem

Im Rahmen der Untersuchung und Probengewinnung wurden die folgenden Informationen von den Patienten erfragt:

- ethnische Zugehörigkeit
- Grund des Klinikbesuches, weitere Diagnosen bzw. Erkrankungen
- Gebrauch von Hautpflegeprodukten in den letzten 48 Stunden, insbesondere Vitamin-E-haltige Externa, Sonnencreme, Kosmetika
- Ernährungsgewohnheiten
- orale Einnahmen von Vitaminpräparaten, insbesondere Vitamin-E-haltige
- andere Ernährungsergänzungsmittel, wie z. B. Mineralien
- Medikation, insbesondere Externa im Stirnbereich und Systemmedikation/Interna
- Zigarettenkonsum

4.2 *Votum der Ethikkommission*

Ein positives Votum der Ethikkommission des Children's Memorial Hospital in Chicago lag vor (Aktenzeichen IRB #: 2004-12258). Vor Bewilligung eines Antrages durch die Ethikkommission mussten sämtliche an der Studie beteiligten Untersucher die erfolgreiche Absolvierung des CITI-Testes (Collaborative IRB Training Initiative) nachweisen. Bei der „Collaborative IRB Teaching Initiative (CITI)“ handelt es sich um eine Kollaboration der University of Miami und dem Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle zur Entwicklung von Internet gestützten Kursen zum Schutze von menschlichen Probanden in klinischen Studien.

4.3 Untersuchungsmaterialien

4.3.1 Chemikalien und Puffer

4.3.1.1 Chemikalien

2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), (Formel $C_{15}H_{24}O$) , 99+%, Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. 240028

Ethanol, HPLC-Reinheitsgrad, (Formel C_2H_6O), Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. 270741

Lithium-Perchlorat-Puder, Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. 62579

Methanol, 99,93 %, HPLC-Reinheitsgrad, Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. 270474

Squalen (Formel $C_{30}H_{50}$), Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. S3626

α -Tocopherol, 97 %, flüssig, (Formel $C_{29}H_{50}O_2$), Sigma-Aldrich, INC., Missouri, USA, Bestell-Nr. 258024

4.3.1.2 Puffer

HPLC-Laufpuffer mit 20 mmol Lithiumperchlorat:

Lithiumperchlorat	2,1278 g
-------------------	----------

Ethanol	500 ml
---------	--------

Methanol	500 ml
----------	--------

- gerührt für 10 min und im Anschluss gefiltert

HPLC-Spülpuffer:

Ethanol	500 ml
---------	--------

Methanol	500 ml
----------	--------

BHT-Stammlösung:

2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT)	1 g
--	-----

Ethanol	100 ml
---------	--------

- gerührt und bis zum Gebrauch bei -20 °C gelagert

Probenextraktionspuffer:

BHT-Stammlösung 2,50 ml

Ethanol (-20 °C) 97, 50 ml

- bei Bedarf frisch angesetzt

4.3.2 Geräte und Arbeitsmaterialien

4.3.2.1 Arbeitsmaterialien

Alkoholtupfer, aktiver Bestandteil 70 %iger Isopropylalkohol, “medium alcohol prep pad“, Firma Triad, Mukwonago, USA, Bestell-Nr. 10-3001

Filter, Filtropur BT 50, Aufsatzfilter für Lagerungsgefäße, Vacuumfiltration, Membrandurchmesser 90 mm, Porengröße 0,20 µm, Filtrationsvolumen 500 ml, Sarstedt, Inc., Newton, NC, USA, Bestell-Nr. 83.1823.101

Handschuhe, puderfreie Flex-Vinyl-Handschuhe (Flex-Vinyl Examination Gloves Powder-Free), Firma High Five Products INC., Chicago, Illinois, USA. Order # V601.

Mikroeinsätze, konische Mikroeinsätze für Roll-/Schnapprandflaschen, µ-Einsatz, 6x 30mm ca. 300µl (konisch hängend), Spitze 12-13mm, CZT Klaus Trott Chromatographie-Zubehör, Kriftel, Deutschland, Bestell-Nr. 501106010

Probenfläschchen, Roll-/Schnapprandflaschen 1,5 ml/braun (Snap-On[®]) weite Öffnung, Schriftfläche, CZT Klaus Trott Chromatographie-Zubehör, Kriftel, Deutschland Bestell-Nr. 5180-3376

Tapes, Sebutapes[®], Firma CuDerm, Dallas, Texas, USA, U.S. Patent 4532937, EPO patent granted, Bestell-Nr. # S100, Lot 0899-02-111097

Trennsäule Luna 5µ C18 (2), 250x4,60 mm, Firma Phenomenex[®], Torrance, California, USA, Seriennummer 157113-20

Vorsäulen (Security Guard Cartridges), C18, 4x3,0mm, Firma Phenomex[®], Torrance, CA 90501, USA, Katalognummer AJO-4287

4.3.2.2 HPLC-Geräte

Gynkotek HPLC System, Firma Dionex-Softtron GmbH, Germering, Deutschland, bestehend aus:

- Entgaser, Seriennummer B28027
- Gradientenpumpe (M480G), Seriennummer 9543069
- Autosampler (Gina 50), Seriennummer 9540042
- UV/Vis-Detektor (UVD 340), Seriennummer 9402029
- elektrochemischer Detektor (ECD) von der Firma ANTEC, Leyden, Niederlande, Seriennummer 9323 mit VT-03 Flusszelle, 2 mm Ag WE, sb REF, Bestell-Nr. 110.4130

4.3.2.3 Weitere Geräte

Pipette, Gilson Pipette, Pipetman, P 1000, 100 bis 1000µl, World Headquarters Gilson, Inc., 3000 W. Beltline Hwy., Middleton, WI 53562-0027, USA, Bestell-Nr. H-83-13966

Pipette, VWRbrand Pipette, 20 bis 200 µl, VWR Scientific Products Corporation, West Chester, PENNSYLVANIA 19380, USA, Bestell-Nr. 041462605

Vortexer, Touch Mixer, Firma Fisher Scientific, Model 232, Seriennummer 108N0348

Zentrifuge, Eppendorf Zentrifuge 5402, Refrigerated Table Top Centrifuge, Firma Brinkmann (Eppendorf Unternehmen), Westbury, NY, USA

4.4 Studienprotokoll und Ablauf

Die Probanden wurden am Children's Memorial Hospital in Chicago, Illinois, USA rekrutiert und untersucht. Bei den Probanden handelte es sich um Säuglinge, Kleinkinder, Kinder und Jugendliche, die sich in der dermatologischen Sprechstunde des Children's Memorial Hospitals vorstellten, sowie um deren Angehörige und Begleitpersonen.

4.4.1 Inhalt des Aushanges

Durch mehrere Aushänge (siehe Anhang) im Bereich der Poliklinik des Children's Memorial Hospital in Chicago, Illinois, USA wurden Patienten, Begleitpersonen und Besucher auf die Studie aufmerksam gemacht. Der Aushang enthielt die Einladung zur Teilnahme an der Studie im Rahmen des aktuellen Klinikbesuches. Speziell adressierte sich dieser an Minderjährige aller Altersstufen und Erwachsene mit gesunder Haut. Die Information beinhaltete folgende Beschreibungen:

- ungefähre Zeitumfang inklusive der Probensammlung von 30 Minuten.
- Sebutapes[®] und deren Eigenschaften, beispielsweise keine bekannten Nebenwirkungen und schmerzloses Ablösen, mit entsprechenden Abbildungen.
- Beschreibung des Ziels der Studie, mehr über die Rolle von Vitamin E in der Haut zu lernen, speziell im Altersgruppenvergleich, um ggf. Hautschutzprodukte zu verbessern.
- Erwähnung der Kompensation für den Zeitaufwand.
- Bitte, die Sprechstundenhilfe oder die Ärztin im Wartezimmer direkt zu kontaktieren.

Wenn Interesse an der Studienteilnahme bestand, wurden in Einzelgesprächen die Grundzüge der Studie besprochen und geprüft, ob der Interessent als Proband geeignet war. Zu den Ausschlusskriterien zählte der Gebrauch von Externa (wie zum Beispiel Pflegecremes, Kosmetika, Sonnencreme, Medikamentenzubereitungen) im Entnahmegbiet. Den interessierten und geeigneten Personen wurde die Einverständniserklärung ausgehändigt. Nach dem Durchlesen und Unterzeichnen der Erklärung wurden die Patienten in einen Untersuchungsraum geführt, weitere Fragen der Probanden wurden besprochen, soweit bestehend.

4.4.2 Entnahme/Sammlung der Sebumproben

Während der dermatologischen Sprechstunde wurden Patienten und deren Begleitpersonen im Warteraum über die Studie informiert. Als geeignet erscheinende Personen wurden direkt von der Autorin der Arbeit angesprochen, darüber hinaus machten Aushänge im Wartebereich auf die Studie aufmerksam. Der Aushang informierte über das Ziel und den Ablauf der Studie und hielt die Patienten dazu an, sich mit der Studienkoordinatorin in Verbindung zu setzen. Der Aushang bestand aus einem Blatt der Größe DIN A4 und zeigte neben der Information das Foto einer Stirn mit vier applizierten Sebutapes[®], zum besseren Verständnis.

4.4.3 Sebumsammlung, Sebutape[®]-Technik

Abbildung 7 zeigt ein einzelnes Sebutape[®] (Originalgrösse 28.58 mm x 19.05 mm), die Sebumaufnahme findet ausschließlich im weissen Anteil statt. Sebutape[®] wurde als wissenschaftliches Hilfsmittel designt, um die Produktion und die Verteilung von aktiven Talgdrüsen messen zu können. Die Haftstreifen ermöglichen die Sammlung von Sebum,

ohne dabei Lösungsmittel, Puder oder Chemikalien zu verwenden. Die Methode basiert auf einer Kombination aus einem adhäsiven und gleichzeitig mit Mikroporen versehenen Film, der als passiver Kollektor von Sebum fungiert. Dabei ändert der Mikroporenfilm durch die Verdrängung der Luft durch Sebum sein Aussehen. Die mit Sebum gefüllten Mikroporen können kein Licht mehr streuen und wirken dadurch transparent. Die Mikroporen sind so designt, dass ein seitliches Ausfließen von Sebum minimiert ist und die aktiven Talgdrüsen gut voneinander abgrenzbar sind (CuDerm 2003).



Abbildung 7: Sebutape® (CuDerm 2003)



Abbildung 8: Erwachsener Studienteilnehmer mit applizierten Sebutapes®

Sebumsammlung mittels vier Sebutapes® bei männlichem Probanden, kurz vor Ablauf der Sammelperiode aufgenommen. Die dunklen Punkte auf den Tapes sind mit Sebum gefüllte Mikroporen.

Der Hautstatus der Patienten wurde überprüft, insbesondere wurde auf intakte Gesichtshaut im Stirnbereich geachtet. Die Daten der Probanden wurden erhoben und der Fragebogen gemeinsam durchgegangen. Nach ausgiebiger Prüfung der Eignung der Probanden durch Inspektion der Haut und Befragung wurde mit der Probensammlung begonnen. Vor Applikation der Sebutapes® wurde die Stirn mit Alkoholtupfern (70 %igen Isopropylalkohol) nach standardisiertem Schema gereinigt. Dabei wurde der

Tupfer dreimalig mit gleichmäßigem Druck über die Stirn gestrichen. Bei der Reinigung und der anschließenden Applikation wurden Vinyl-Handschuhe getragen, die nach Abschluss der Applikation entsorgt wurden. Diese Reinigung diente der Entfernung von Oberflächenlipiden und Verunreinigungen wie altem Talg und Fremdstoffen sowie Zellresten. Die Probanden wurden darum gebeten, den Stirnbereich bis nach der Entfernung der Tapes und insbesondere die Tapes selbst nicht zu berühren. Die schwarzen Ränder der Sebutapes[®] wurden direkt vor der Applikation per Schere entfernt, um eine Beeinflussung der Messwerte durch den enthaltenen Klebstoff dieser Areale zu vermeiden. Die vier Sebutapes[®] mit einer Gesamtfläche von 14,4 cm² wurden mit einer anatomischen Pinzette vom Träger abgelöst und mit leichtem Daumenandruck auf der Stirn appliziert. Die Applikationsstellen wurden oberhalb der Augenbrauen gewählt, ein Abstand von ca. 0,5 cm zu den Augenbrauen wurde dabei eingehalten. Die Applikation erfolgte von der Mittellinie ausgehend. Je ein Tape wurde rechts und links der Mittellinie appliziert. Die anderen zwei Tapes wurden auf selber Höhe jeweils lateral der schon applizierten Tapes aufgebracht. Eine Überlappung der Tapes wurde vermieden. Die Sebutapes[®] wurden exakt 30 Minuten auf der Stirn belassen und dann vorsichtig abgelöst. Dabei wurden die Tapes an einer Ecke mit der Pinzette gegriffen und langsam abgezogen. Die vier Tapes wurden nacheinander in ein leeres 2 ml Eppendorfgefäß gegeben und direkt im Anschluss in Eis gelagert. Im Labor wurden sie dann direkt weiterbearbeitet bzw. bei -80 °C eingefroren, wenn die direkte Analyse nicht gleich erfolgen konnte. Nach Abschluss der Probensammlung bekamen die Patienten eine Kopie der unterzeichneten Einverständniserklärung sowie eine Aufwandsentschädigung von 5 US-Dollar.

4.4.4 Aufbereitung der Tapes

Die Proben wurden zeitnah analysiert oder bei -80 °C zwischengelagert. Zur Lösung der gesammelten Substanzen einer Probe wurden die dazugehörigen vier Sebutapes[®] nacheinander in ein mit Probenextraktionspuffer gefülltes 1,5 ml Eppendorfgefäß gegeben. 1 ml Probenextraktionspuffer, bestehend aus 2,5 % BHT-Stammlösung und 97,5 % Ethanol, wurde in das Eppendorfgefäß pipettiert. Anschließend wurde das 1. Tape des jeweiligen Probanden mit einer Pinzette aus dem Lagerungsgefäß entnommen und in das mit Probenextraktionspuffer gefüllte Eppendorfgefäß eingebracht. Das geschlossene Gefäß wurde dann 30 Sekunden gevortext. Beim Vortexen wurde streng darauf geachtet,

dass das Tape zu jedem Zeitpunkt mit Puffer bedeckt war, um eine optimale Herauslösung der gesammelten Sebums und seiner Bestandteile zu ermöglichen. Nach Ablauf der 30 Sekunden wurde das Tape mit einer Pinzette aus dem Gefäß entnommen und entsorgt, dann wurde das 2. Tape in die Pufferflüssigkeit gegeben und ebenfalls 30 Sekunden gevortext. Mit Tape drei und vier wurde auf gleiche Weise verfahren. Nach Abschluss des Lösungsvorganges wurde die Lösung für zwei Minuten bei 0 °C und 4000 rpm zentrifugiert, um Restpartikel, wie z. B. Epidermiszellen und Haare zu entfernen. Der entstandene Überstand wurde abpipettiert, 200 µl davon in den konischen Mikroeinsatz der Roll-/Schnapprandflaschen gegeben und direkt verschlossen. Der Rest des Überstandes wurde bei -80 °C eingefroren und die Probe in der Roll-/Schnapprandflasche bis zur Messung auf Eis gekühlt.

4.4.5 Bestimmung von α -Tocopherol und Squalen mittels HPLC

Die Messung von α -Tocopherol erfolgt elektrochemisch mittels HPLC. Die Messungen wurden mittels eines Gynkotec HPLC-Systems durchgeführt. Dieses bestand aus einem Autosampler (Gina 50), einer Gradientenpumpe (M480G), einem Entgaser, einem UV-/Vis-Detektor (UVD 340) und einem elektrochemischen Detektor (ECD). Kontrollstandards wurden aus kommerziell erhältlichem reinen α -Tocopherol verdünnt und konnten sowohl mittels UV-Detektion bei einer Wellenlänge von 293 nm als auch im ECD gemessen werden. Standards des Squalens wurden mittels kommerziell erhältlichem reinen Squalen angesetzt und mittels UV-Detektion bei einer Wellenlänge von 210 nm gemessen. Die mobile Phase bestand aus Ethanol und Methanol (1:1v/v, beides HPLC-Reinheitsgrad) mit 20 mmol Lithium Perchlorat. Die Flussrate betrug 1,4 ml/min. Alle Proben wurden bei Raumtemperatur (20-22 °C) analysiert und über die Trennsäule die Luna 5 µ C18 (2), 250 x 4,60 mm aufgetrennt. Zur Injektion der einzelnen Probenvolumina wurde der automatische Probengeber verwendet. Bis zur Injektion in das HPLC-System lagen die Proben auf Eis. Die Messung am ECD wurde mit einem Oxidationspotential von 500 mV, bei 0,02x100 nA/V durchgeführt. Die Peakintegration und Quantifizierung der somit detektierten Substanzen erfolgte mit der Gynotek Software 5.6 (Dionex-Softron GmbH, Germering, Deutschland).

5 Ergebnisse

5.1 Studienpopulation und statistische Vergleiche

Die Studie wurde an 280 gesunden Probanden durchgeführt. Bei den Teilnehmern handelte es sich um 143 Frauen und 137 Männer im Alter von 0-50 Jahren. Alle Studienteilnehmer erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien. Es kam während der klinischen Durchführung zu keinen unerwarteten Nebenwirkungen. Die Studienpopulation setzte sich wie folgt zusammen:

Patientengruppen:

Gruppe A: 0-6 Monate, n=17; weiblich oder männlich

Gruppe B: 7 Monate bis 5 Jahre, n=45; weiblich oder männlich

Gruppe C: 6-10 Jahre, n=61; weiblich oder männlich

Gruppe D: 11-19 Jahre, n=72; weiblich oder männlich

Gruppe E: 20-50 Jahre, n=85; weiblich oder männlich

Die Ergebnisse der statistischen Berechnung für den Vergleich der unterschiedlichen Altersgruppen für die Parameter Sebumsqualengehalt, Sebum α -Tocopherol sowie das Verhältnis α -Tocopherol/Squalen finden sich in Tabelle 3 zusammengefasst.

Altersgruppen	Squalenlevel	α -Tocopherollevel	α -T/SQ Level
Säuglinge vs. Kleinkinder	p < 0,05	p < 0,05	ns
Säuglinge vs. Kinder	ns	p < 0,001	ns
Säuglinge vs. Jugendliche	p < 0,01	ns	p < 0,001
Säuglinge vs. Erwachsene	p < 0,001	ns	p < 0,001
Kleinkinder vs. Kinder	p < 0,05	ns	p < 0,001
Kleinkinder vs. Jugendliche	p < 0,001	ns	p < 0,001
Kleinkinder vs. Erwachsene	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Kinder vs. Jugendliche	p < 0,001	p < 0,05	p < 0,001
Kinder vs. Erwachsene	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Jugendliche vs. Erwachsene	ns	p < 0,001	p < 0,05

Tabelle 3: Zusammenfassung der statistischen Vergleiche

Die statistische Auswertung erfolgte mittels einseitiger, parameterfreier Varianzanalyse (Kruskal-Wallis-Test) mit der Software Graph Pad Instat®.

5.2 Squalenspiegel im Stirnsebum sind sehr niedrig in der frühen Kindheit und beginnen in der Pubertät zu steigen

Die angegebenen Werte sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm der Standardabweichung. Die niedrigsten Squalenspiegel wurden bei Probanden zwischen 7 Monaten und 5 Jahren (Gruppe B: $2,12 \pm 0,31 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; $n=45$) gemessen, gefolgt von Kindern zwischen 6 und 10 Jahren (Gruppe C: $8,86 \pm 1,28 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; $n=61$). Leicht höhere Messwerte fanden sich im Alter von 0-6 Monaten (Gruppe A: $12,23 \pm 2,66 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; $n=17$). In der Altersgruppe 11-19 Jahren kam es zu einem starken Anstieg des Squalengehaltes (Gruppe D: $33,13 \pm 2,3 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; $n=72$), der nur noch von den Werten der Erwachsenengruppe im Alter von 20-50 Jahren übertroffen wurde (Gruppe E: $41,16 \pm 2,14 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$; $n=85$).

Im statistischen Vergleich fanden sich signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersgruppen: In der Altersgruppe bis 6 Monate und in der Gruppe von 6-10 Jahren wurden im Vergleich zur Erwachsenenkontrollgruppe signifikant niedrigere Squalenlevel gemessen. Bemerkenswerterweise wurden keine signifikant unterschiedlichen Werte für das Squalenlevel bei Jugendlichen der Gruppe D und der Gruppe der Erwachsenen (Gruppe E) festgestellt, was anzeigt, dass im Jugendalter bereits Exkretionsraten nahezu auf Erwachsenenlevel vorhanden sind. Im Gegensatz dazu waren die Sebumlevel in den Gruppen A-C signifikant niedriger gegenüber den Gruppen D und E (A vs. D: $p < 0,01$; B-C vs. D: $p < 0,001$; A-C vs. E: $p < 0,001$) (Abbildung 9).

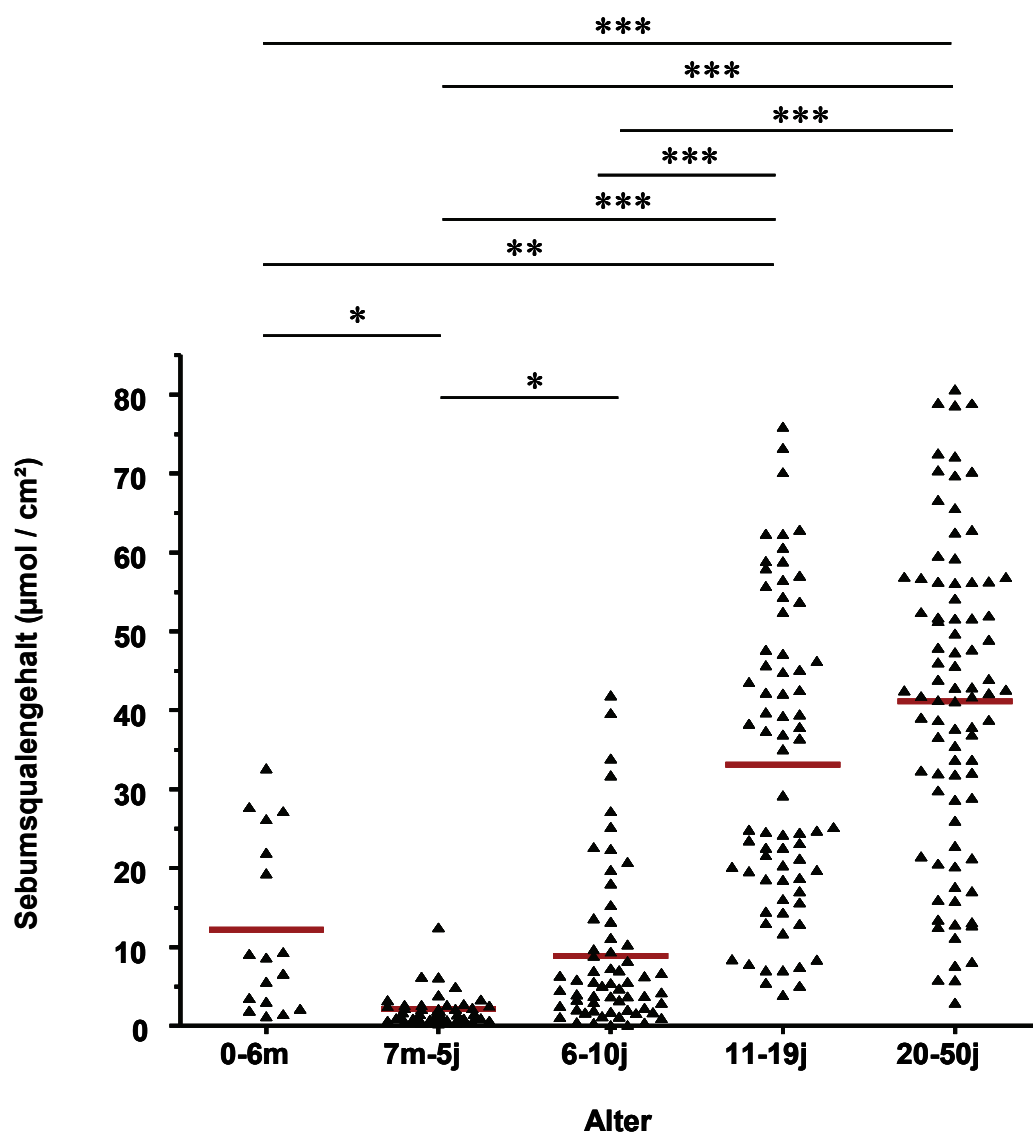


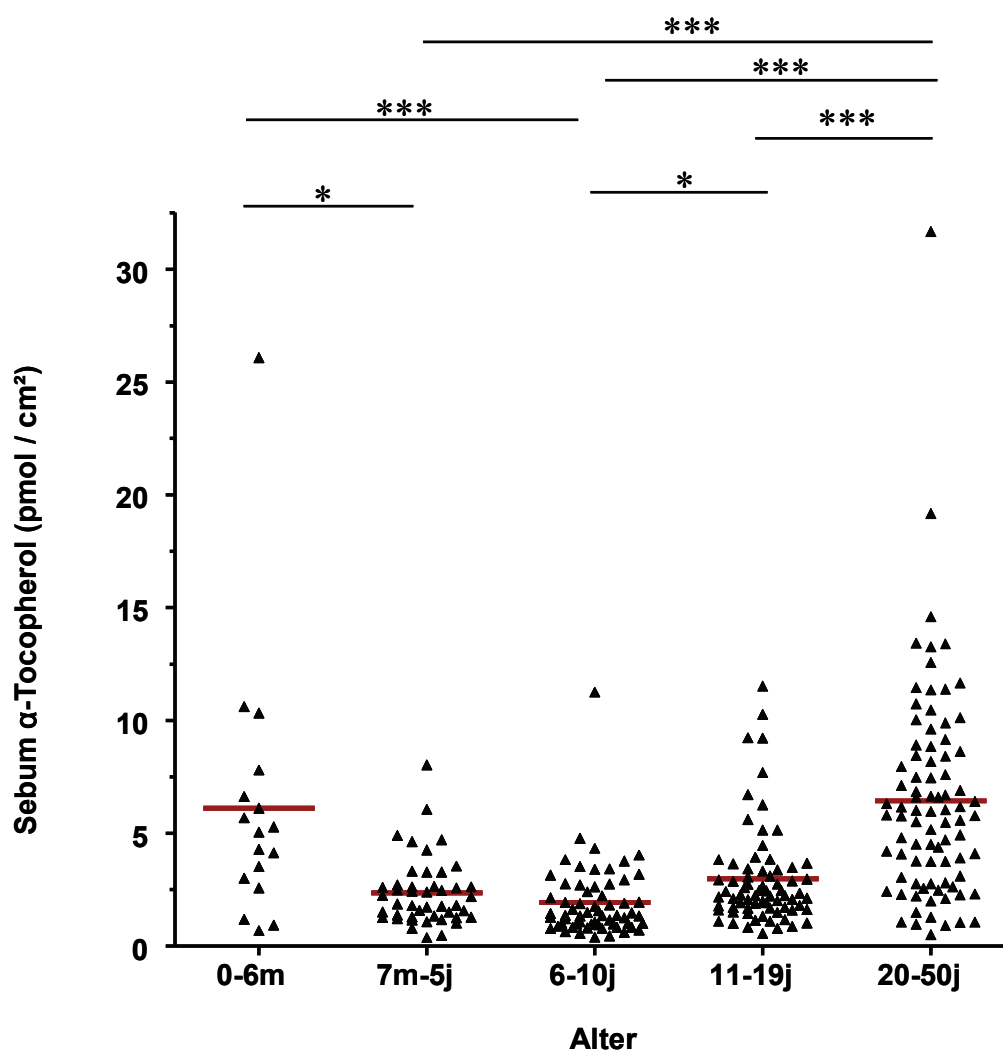
Abbildung 9: Sebumsqualengehalt getrennt nach Altersgruppen

5.3 *α*-Tocopherolspiegel im Sebum des Gesichtes sind bei Pubertierenden signifikant niedriger als bei Erwachsenen

Die angegebenen Werte sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm der Standardabweichung. Die niedrigsten Sebum- α -Tocopherolspiegel fanden sich im Alter zwischen 6 und 10 Jahren (Gruppe C: $1,93 \pm 0,21$ pmol/cm²), gefolgt von Werten im Alter von 7 Monaten bis 5 Jahren (Gruppe B: $2,36 \pm 0,22$ pmol/cm²). Die nächsthöheren Werte weisen Jugendliche von 11 bis 19 Jahre (Gruppe D: $2,98 \pm 0,3$ pmol/cm²) auf, gefolgt von Säuglingen im Alter von 0 bis 6 Monate (Gruppe A: $6,11 \pm 1,43$ pmol/cm²).

Die höchsten Werte fanden sich im Erwachsenenalter zwischen 20 und 50 Jahren (Gruppe E: $6,44 \pm 0,5$ pmol/cm²).

Im statistischen Vergleich fanden sich insbesondere Unterschiede zu Säuglingen und Erwachsenen: Die Sebum- α -Tocopherolspiegel in der Altersgruppe bis 6 Monate waren 3,16-mal höher als in der Gruppe der 6 bis 10-jährigen ($p < 0,001$) und 2,59 mal höher als die in der Gruppe B ($p < 0,05$). Es gab keinen signifikanten Sebum- α -Tocopherolspiegelunterschied zwischen der Gruppe der Erwachsenen und den Säuglingen der Gruppe A. Jedoch gab es signifikante Unterschiede zwischen den Sebum- α -Tocopherolspiegeln von Kleinkindern (Gruppe B), Kindern (Gruppe C) und Jugendlichen (Gruppe D) gegenüber der Erwachsenenengruppe (Gruppe E). Die Spiegel von Gruppe B, C und D waren signifikant niedriger als die der Gruppe E (alle Gruppen $p < 0,001$; Abbildung 10). Die Sebum- α -Tocopherolspiegel sind somit in der Neugeborenenzeit und im Erwachsenenalter am höchsten.



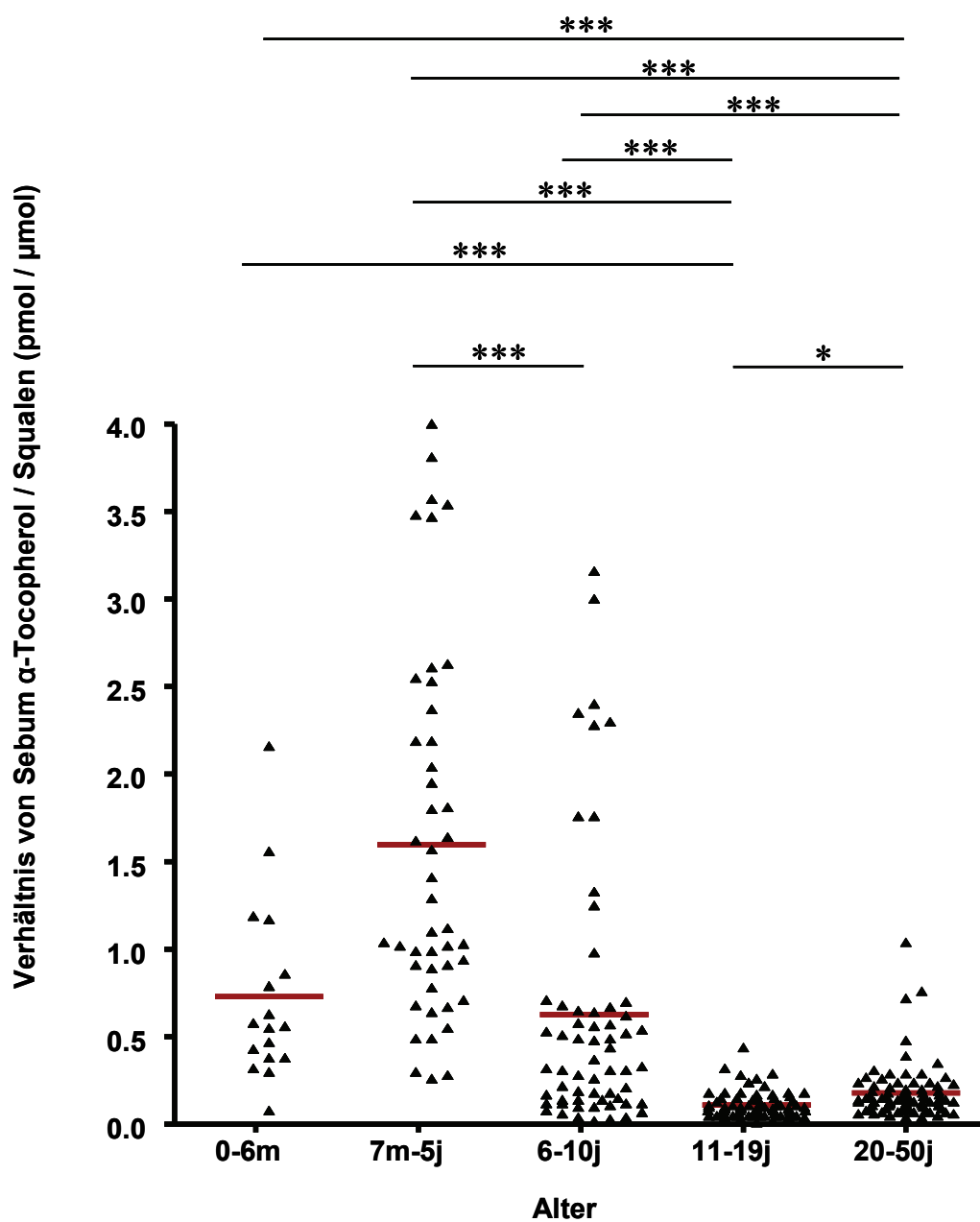
Jedes Dreieck repräsentiert einen Probanden, jede rote Linie den Mittelwert der jeweiligen Altersgruppe. (*p < 0,05; ***p < 0,001)

Abbildung 10: Sebum α-Tocopherol-Level getrennt nach Altersgruppen

5.4 Das Verhältnis von α-Tocopherol zu Squalen (α-Tocopherol/Squalen) ist bei Säuglingen und Kleinkindern am höchsten und erreicht ein Minimum bei Jugendlichen

Die angegebenen Werte sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte +/- der Standardabweichung. Die höchsten Werte für das Verhältnis von α-Tocopherol zu Squalen (α-T/SQ) fanden sich in der Gruppe der Kleinkinder von 7 Monaten bis 5 Jahren (Gruppe B: $1,54 \pm 0,15$), gefolgt von den Säuglingen (Gruppe A: $0,73 \pm 0,13$) und Kindern (Gruppe C: $0,63 \pm 0,10$). In allen 3 Gruppen war das Verhältnis signifikant höher

als in der Gruppe der Jugendlichen (Gruppe D: $0,11 \pm 0,01$) und der Erwachsenenengruppe (Gruppe E: $0,18 \pm 0,02$) (beide $p < 0,001$). Interessanterweise wurde das niedrigste Verhältnis in der Jugendlichengruppe gemessen. Es war signifikant niedriger als das in allen Gruppen mit jüngeren Probanden ($***p < 0,001$) und darüber hinaus auch niedriger als das der Erwachsenenengruppe ($*p < 0,05$). Im Gegensatz zu korrespondierenden Squalenmengen, waren der α -Tocopherol-Gehalt und das Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen (α -T/SQ) bei Jugendlichen signifikant niedriger als bei Erwachsenen (vgl. Abbildung 11).



Jedes Dreieck repräsentiert einen Probanden, jede rote Linie den Mittelwert der jeweiligen Altersgruppe. (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$)

Abbildung 11: Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen im Sebum getrennt nach Altersgruppen

6 Diskussion

Einer der Hauptbestandteile des menschlichen Sebums ist Squalen, ein ungesättigtes Lipid, das in den Talgdrüsen gebildet wird und als guter Marker für die Sebumsekretion betrachtet wird (Stewart und Downing 1991, Stewart 1992). Die Sebumsammlung wurde mittels Sebutapes[®] durchgeführt. Diese Technik wurde für die Anwendung bei Minderjährigen und Erwachsenen schon von zahlreichen Autoren beschrieben (Pierard-Franchimont et al. 1991, Pierard und Pierard-Franchimont 1992, Thiele und Packer 1999, Ekanayake Mudiyansele et al. 2003b, Pierard et al. 1987a). Sebutapes[®] sind Klebestreifen mit Mikroporen, die benutzt werden, um z. B. die Talgdrüsenaktivität zu untersuchen. Es gibt einige Einschränkungen für den Gebrauch von Sebutape[®], einige davon sind spezifisch für das Material selbst. Der Klebefilm zwischen dem Tape und der Haut ist ein limitierender Faktor für den Transfer von Lipiden. Dies kann von Bedeutung sein, wenn die Exkretionsrate niedrig und/oder die Probensammelzeit kurz ist. Ein Sättigungseffekt tritt bei regulären Sebutapes[®] nach etwa einer Stunde auf, wenn das zu untersuchende Individuum eine starke Seborrhoe hat. Dies bedeutet, dass auch sehr hohe Squalenwerte u. U. zu niedrig abgebildet werden. Aus diesen Gründen sollte die Sebumsammlung mit regulären Sebutapes[®] nicht länger als eine Stunde betragen (Pierard et al. 2000).

In einer früheren Arbeit von Stewart und Downing schien bei 9 von 24 untersuchten Kindern im Alter von 6-8 Jahren die Sebumsekretion praktisch nicht nachweisbar zu sein (Stewart und Downing 1985). Im Gegensatz dazu ließen sich in der vorliegenden Studie erstmals mit Hilfe der Sebutape[®]-Technik und Analyse mittels HPLC und elektrochemischer Detektion signifikante Sebummengen auch in dieser Altersgruppe belegen. Die Sebutape[®]-Technik, insbesondere in Kombination mit einer Squalendetektion mittels HPLC, erwies sich als sensitive und valide Methode, um Mengen- und Verhältnisangaben über die Talgdrüsenlipide zu erhalten. Squalenlevel sind abhängig von der Sebum-Sekretionsrate und waren am niedrigsten in der Gruppe 6 Monate bis 5 Jahre. Sebumsekretion bei jungen Kindern wurde schon von verschiedenen Wissenschaftlern untersucht. Die Studie mit den höchsten Teilnehmerzahlen war die von Agache und Mitarbeitern, die Hautoberflächenlipide auf der Stirn bei 45 Neugeborenen und 193 Kleinkindern untersuchten. In dieser Studie waren alle Teilnehmer jünger als 12 Monate, und das Sebum wurde photometrisch

analysiert. Eine große individuelle Spanne des Sebumlevels wurde für den Zeitraum der 1. Lebenswoche beschrieben. Die Sebumlevel in dieser Altersgruppe lagen im selben Bereich wie die von Erwachsenen (Agache et al. 1980). Zusätzlich stellten sie fest, dass die Sebumlevel von Geburt bis zum 6. Lebensmonat abfallen (Agache et al. 1980). Diese Daten zeigen bzgl. der abnehmenden Sebumsekretion bis zum 6. Lebensmonat eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorgestellten Arbeit. Die Squalenlevel der vorliegenden Studie waren am geringsten bei Probanden zwischen 7 Monaten und 5 Jahren, was mit der niedrigen Sebumsekretion zusammenhängt.

Ramasatry und Mitarbeiter, die Hautoberflächenlipide an der Stirn zwischen dem 5. Lebenstag und dem 15. Lebensjahr untersuchten, fanden die niedrigsten Squalenlevel bei Kleinkindern und Kindern zwischen zwei und acht Jahren (Ramasatry et al. 1970). Pochi und Mitarbeiter berichteten, dass die Talgdrüsensekretion bei Kindern gering ist und im mittleren bis fortgeschrittenen Kindesalter unter Androgeneinfluss zu steigen beginnt. Dieser Anstieg setzt sich bis in die späten Teenagerjahre fort, danach finden sich keine weiteren signifikanten Veränderungen (Pochi et al. 1979). Interessanterweise konnte keine Korrelation zwischen den niedrigen Sebum- und Squalenleveln im Kindesalter und dem Auftreten von trockener Haut nachgewiesen werden (Downing et al. 1987, Elias und Feingold 1992). Stewart et al. untersuchten die Sebumzusammensetzung, das Serumlevel von Dehydroepiandrosteronsulfat und das Pubertätsstadium bei 111 Jungen und Mädchen im Alter von 2-15 Jahren. Das Verhältnis von Wachsesteren zu Cholesterol plus Cholesterolesteren und das Serumlevel von Dehydroepiandrosteronsulfat begannen bei Kindern zwischen sieben und zehn Jahren zu steigen. Zusätzlich stellten sie fest, dass der Anstieg der Sebumsekretion bei vielen Kindern schon vor dem Auftreten von klassischen Pubertätszeichen messbar war und dass adrenale Androgene die Haupteinflussfaktoren auf die Talgdrüsenaktivität während der Pubertät zu sein scheinen (Stewart et al. 1992). Darüber hinaus zeigte sich in unserer Studie, dass der Anstieg des Squalenlevels bereits in der Altersgruppe von 6-10 Jahren zu beobachten war.

Während der Pubertät wurden dann Squalenlevel erreicht, die sich von denen der Erwachsenen nicht mehr signifikant unterschieden. Dies bedeutet, dass die Sebumexkretion auf dem Aktivitätsniveau von Erwachsenen liegt, ohne dass jedoch in der vorliegenden Studie der Einfluss von Geschlechtshormonen untersucht wurde.

Letztgenannter unterliegt Änderungen im Laufe des Alterungsprozesses. Durch die Auswahl von Probanden bis maximal 50 Jahre kann dieser Effekt auf die vorliegenden Daten jedoch als relativ niedrig eingestuft werden.

Die Sebumexkretionsrate und die Follikelexkretionsrate nehmen nach der Geburt rapide ab und bleiben niedrig im Kindesalter (Cooper et al. 1976). Sie steigen leicht an zum Zeitpunkt der Adrenarche, wenn die Nebennierenrinde beginnt, Androgene zu sezernieren. Zu Beginn der Pubertät steigen sie weiter an als Antwort auf die Gonadenaktivität. Der Anstieg der Haut- und Haaröligkeit erreicht sein Maximum etwa zum Zeitpunkt des Erreichens der vollen Körpergröße. Die Sebumexkretionsrate und die Follikelexkretionsrate bleiben bis zur achten Dekade hoch bei Männern. Bei Frauen bleiben die Exkretionsraten gleich bis zur Menopause. Während der klimakterischen Periode kann die Seborrhoe ansteigen oder stetig mit den Jahren abnehmen (Pierard et al. 1987b). Insbesondere die Aussage von Cooper et al. bzgl. der abfallenden Sebumsekretionsrate nach der Geburt lässt sich auch durch die Ergebnisse der Studie belegen (Cooper et al. 1976).

Ottaviani et al. konnten zeigen, dass Squalenperoxide die Proliferation von humanen Keratinozyten sowie die LOX-Aktivität und die Aktivierung von NF- κ B (nuclear factor kappa B) stimuliert und damit die Sekretion von IL-6 anregt. Diese Ergebnisse zeigen in Zusammenschau mit früheren Forschungsergebnissen, dass Squalenperoxide in der Entzündungsentstehung der Akne involviert sind (Ottaviani et al. 2006). Die proinflammatorischen Effekte von Squalenhydroperoxid könnten teilweise durch die COX-2-Expression und ROS-Bildung bedingt sein und werden durch die NF- κ B-Aktivierung reguliert. Diese Effekte lassen sich durch γ -Tocotrienol abschwächen (Nakagawa et al.). Anhand dieser beiden Arbeiten wird deutlich, dass Squalenperoxide eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Entzündungsprozessen in der Haut, insbesondere bei der Entstehung und Unterhaltung der Akne vulgaris, haben. Nakagawa konnten dabei auch den protektiven Effekt von Vitamin E in der Form von γ -Tocotrienol belegen.

Bezüglich des Squalengehaltes als Marker für die Sebozytenaktivität bei unterschiedlichen Altersgruppen kann gesagt werden, dass der α -Tocopherolspiegel im Sebum des Gesichtes nach einem initialen hohen Wert, der mit großer Wahrscheinlichkeit als Restfunktion der mütterlichen Hormone auf den Neugeborenenorganismus zu werten ist, über das Kindes- und Jugendalter kontinuierlich

bis auf Erwachsenenwerte ansteigt. Als Grund hierfür können in erster Linie Wachstums- und Reifungsprozesse angenommen werden. α -Tocopherol wird von den Sebozyten sezerniert und spielt eine wichtige Rolle im protektiven antioxidativen Netzwerk der Epidermis. Thiele et al. zeigten 20-fach erhöhte α -Tocopherol-Werte im obersten Bereich des Stratum corneums im Gesichtsbereich, verglichen mit denen im Oberarmbereich (Thiele und Packer 1999). Es wurde ein Zusammenhang mit der erhöhten Talgdrüsendichte im Gesicht vermutet und daraufhin der Gehalt vom Vitamin E im Sebum von gesunden Probanden untersucht. Es zeigte sich eine konstante Sekretion von α -Tocopherol aus den Talgdrüsen, die sehr gut mit der Sekretion von Squalen korrelierte. Zusätzlich wurde der Stratum corneum-Gradient von Squalen im Gesicht mit demjenigen des Oberarmes verglichen. Dabei zeigte sich, dass Squalen offenbar bis in das tiefe Stratum corneum repenetrierte, denn selbst in der untersten Stratum corneum-Schicht des Gesichts waren noch eine 17-fach erhöhte Squalenkonzentrationen nachweisbar. Schon bei sehr niedrigen, physiologisch relevanten UVA-Dosen kommt es zur Photooxidation von Squalen, die mit der Bildung von Squalenhydroperoxiden einhergeht (Ekanayake Mudiyanse et al. 2003b). Diese Photooxidation ist in Gegenwart von Vitamin E inhibierbar. Dies macht die protektive Rolle der hohen physiologischerweise im Sebum vorkommenden Mengen an Vitamin E deutlich (Thiele 2003).

In der vorliegenden Arbeit konnte belegt werden, dass das protektiv wirkende α -Tocopherol nach initial postpartalen hohen Werten bis zum 10. Lebensjahr absinkt und erst mit Einsetzen der Geschlechtsreife wieder ansteigt. Auch die Werte der Altersgruppe 11-19 Jahre sind noch signifikant niedriger als die der Erwachsenengruppe. Daraus lässt sich ableiten, dass die volle Schutzfunktion erst wieder mit Beginn des Erwachsenenalters erreicht ist.

Das Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen kommt als Maß für die Protektion der Haut durch Antioxidantien in Betracht. Bei vergleichbar konstanter Squalenproduktion könnte ein niedriger Quotient ein Hinweis auf einen reduzierten antioxidativen Schutz der Haut sein. Bisher blieb der Quotient als Messparameter ohne Betrachtung und wurde in dieser Arbeit erstmals altersbezogen erhoben. Der klinische Wert dieses in der vorliegenden Arbeit untersuchten Quotienten ist aktuell Gegenstand weiterer Forschung.

Zur genaueren Beurteilung des möglichen Nutzens des Quotienten wären Messungen an Patienten mit Erkrankungen, die in Verbindung mit oxidativem Stress gesehen werden, sinnvoll. Insbesondere Untersuchungen der α -Tocopherolspiegel bei spezifischen

Krankheitsbildern (z. B. Akne) sowie deren Veränderungen unter und nach Therapie erscheinen sinnvoll.

7 Schlussfolgerungen

Obwohl sich zahlreiche frühere Studien mit dem Sebumspiegel in der Kindheit befasst haben, ist wenig über den α -Tocopherol-Spiegel im Sebum und in den Hautoberflächenlipiden von Säuglingen, Kleinkindern, Kindern und Jugendlichen bekannt. Die vorliegende Studie demonstriert, dass Sebum- α -Tocopherol-Spiegel bei Kleinkindern, Kindern und Jugendlichen signifikant niedriger sind als bei Erwachsenen. Im Gegensatz dazu sind in den ersten 6 Lebensmonaten die Sebum- α -Tocopherol-Spiegel vergleichbar mit denen von Erwachsenen und korrelieren sehr gut mit den hohen gemessenen Squalenspiegeln bei jungen Säuglingen. Während die gemessenen Squalenspiegel zwischen der Altersgruppe 6-10 Jahre und der Altersgruppe 11-19 Jahre stark ansteigen, nämlich etwa um das 3,7-fache, steigen die gemessenen α -Tocopherol-Spiegel nur um das 1,5-fache. Diese Diskrepanz in der Sekretionsmenge der beiden Substanzen wird reflektiert durch ein sehr niedriges Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen bei Jugendlichen. Im Gegensatz dazu ist das α -Tocopherol-/Squalen-Verhältnis vor dem Beginn des starken Squalenanstiegs bei Säuglingen, Kleinkindern, Kindern und Jugendlichen signifikant größer als bei Erwachsenen. Dies gibt Grund zu der Annahme, dass Minderjährige vor dem Beginn der Pubertät besser vor Lipidperoxidation im Sebum und in den Hautoberflächenlipiden geschützt sind als Jugendliche und Erwachsene, vorausgesetzt, dass die biologische Rolle von Sebum- α -Tocopherol hauptsächlich im Schutz vor Lipidperoxidation besteht. In früheren Studien wurde gezeigt, dass α -Tocopherol nicht nur via Talgdrüsensekretion zur Hautoberfläche gelangt, sondern auch teilweise ins Stratum corneum repenetriert (Thiele und Packer 1999, Thiele et al. 1999, Ekanayake-Mudiyanselage et al. 2005). Daher lässt sich annehmen, dass niedrige α -Tocopherol-Mengen, wie sie in der vorliegenden Studie bei Kleinkindern und Kindern gefunden wurden, einen geringeren Schutz der Hautbarriere gegen exogenen oxidativen Stress, wie z. B. UVA- und UVB-Strahlung, bedingen. Ultraviolette Strahlung ist einer der Hauptverursacher von Basaliomen und Spinaliomen der Haut. Diese Tumoren sind die häufigsten Hauttumoren bei kaukasischen Bewohnern der USA (Stern et al. 1986). Amerikanische Kinder sind in gleichem Maße wie Erwachsene sonnenexponiert. Die durchschnittliche jährliche UV-Dosis bei amerikanischen Kindern beträgt 25 KJ/m², 23 bei Mädchen und 28 bei Jungen (Godar 2001). UV-Exposition in der Kindheit wurde mit einem erhöhten Risiko der Hautkrebsbildung in Verbindung gebracht und mag durch eine suboptimale Sonnenschutzanwendung und eine höhere Rate an Sonnenbränden bedingt

sein (Geller et al. 2002). Whiteman et al. stellten fest, dass die Exposition gegenüber hohen Dosen von Sonnenlicht in der Kindheit eine starke Determinante für das Melanomrisiko ist (Whiteman et al. 2001). Andere mögliche Risikofaktoren für die Entstehung des malignen Melanoms können verhältnismässig stärkere Sonnenbrände in der Kindheit sein sowie eine erhöhte Empfindlichkeit der kindlichen Melanozyten gegenüber UV-induzierter DNA-Schädigung (Mancini 2004). Es wurde gezeigt, dass Hautkrebs mit ansteigendem oxidativen Stress assoziiert sind (Sander et al. 2002). Darüber hinaus existieren einige Belege dafür, dass α -Tocopherol vor UV-induzierter DNA-Schädigung wie z. B. Thimindimeren schützt (Placzek et al. 2005). Dies gibt Grund zu der Annahme, dass die geringen Mengen an Sebum- α -Tocopherol, wie sie in der vorliegenden Studie bei jungen Kindern gefunden wurden, einen weiteren Faktor für das gesteigerte Risiko der UV-induzierten Lichtschäden und Karzinogenese darstellen.

Neben der potentiellen Relevanz für die Hautkarzinogenese sind die vorliegenden Ergebnisse darüber hinaus für die Pathophysiologie der Akne relevant. In unserer Studie ist die gravierendste Mengenimbalance zwischen Sebum- α -Tocopherol und Squalen bei den Jugendlichen zu finden, ein nur moderater Anstieg von Sebum- α -Tocopherol steht einem starken Anstieg von Squalen gegenüber. Die ansteigende Sebumproduktion in der Pubertät gilt als wichtiger Faktor in der Pathophysiologie der Akneentwicklung (Zouboulis 2004). An Akne leidende Patienten zeigen höhere Sebumsekretionsraten als die zugeordneten Kontrollgruppenprobanden (Harris et al. 1983). Aktuelle Studien zeigen, dass Talgdrüsen proinflammatorische Lipide sezernieren und stellen die Vermutung auf, dass es sich bei Akne vulgaris in erster Linie um eine inflammatorische Erkrankung handelt (Zouboulis 2004). Zu den proinflammatorischen Lipiden, die an der Akneentstehung beteiligt sind, könnten auch Oxidationsprodukte von Squalen zählen, wie z. B. Squalenperoxide, die nachweislich zur Komedonenentstehung beitragen (Mills et al. 1978, Chiba et al. 2000). Dr. Thiele und seine Arbeitsgruppe wiesen nach, dass α -Tocopherol die Squalenoxidation sehr effizient inhibiert (Ekanayake Mudiyanse et al. 2003a), der relative Mangel an α -Tocopherol bei Jugendlichen führt zu einem verminderten Antioxidantenschutz und könnte damit eine Rolle in der Pathophysiologie der Akne vulgaris spielen. Unter der Annahme, dass die Talgdrüsen von Jugendlichen einem höheren inflammatorischen und/oder oxidativen Stress ausgesetzt sind, könnte der

niedrige Sebum- α -Tocopherol-Spiegel auch als Resultat und nicht als Ursache für die Talgdrüsendisfunktion angesehen werden.

Zusammenfassend wurde ein altersabhängiger Unterschied in der Talgdrüsensekretion von α -Tocopherol und Squalen festgestellt. Redoxveränderungen in den Talgdrüsen und Hautoberflächenlipiden können eine Prädisposition für altersstufenspezifische Hautpathologien darstellen, wie z. B. Akne und Rosazea. Basierend auf unserer Studie, die mit gesunden Patienten durchgeführt wurde, sollten zukünftige Studien eine mögliche Korrelation von niedrigen α -Tocopherol-Spiegel im Sebum und erhöhten Squalenperoxidationsprodukten bei Akne- und Rosazeapatienten untersuchen. Des Weiteren legen die vorliegenden Ergebnisse nahe, besonders auch im Kindesalter topische Sonnenschutzmittel mit Antioxidantien wie α -Tocopherol zu supplementieren.

8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Agache P, Blanc D, Barrand C, Laurent R. 1980. Sebum levels during the first year of life. *Br J Dermatol*, 103 (6):643-649.
- Antunes LM, Takahashi CS. 1998. Effects of high doses of vitamins C and E against doxorubicin-induced chromosomal damage in Wistar rat bone marrow cells. *Mutat Res*, 419 (1-3):137-143.
- Aratri E, Spycher SE, Breyer I, Azzi A. 1999. Modulation of alpha-tropomyosin expression by alpha-tocopherol in rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 447 (1):91-94.
- Azzi A, Boscoboinik D, Fazzio A, Marilley D, Maroni P, Ozer NK, Spycher S, Tasinato A. 1998. RRR-alpha-tocopherol regulation of gene transcription in response to the cell oxidant status. *Z Ernährungswiss*, 37 Suppl 1:21-28.
- Bogin B. 2002. The evolution of human growth. In: Cameron N, Hrsg. Human growth and development. San Diego, California: Academic press, 295-320.
- Bunyan J, McHale D, Green J, Marcinkiewicz S. 1961. Biological potencies of epsilon- and zeta-1-tocopherol and 5-methyltolcol. *Br J Nutr*, 15:253-257.
- Burton GW, Joyce A, Ingold KU. 1982. First proof that vitamin E is major lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma. *Lancet*, 2 (8293):327.
- Burton GW, Joyce A, Ingold KU. 1983. Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membranes? *Arch Biochem Biophys*, 221 (1):281-290.
- Burton JL, Cunliffe WJ, Shuster S. 1970a. Circadian rhythm in sebum excretion. *Br J Dermatol*, 82 (5):497-501.
- Burton JL, Cunliffe WJ, Millar DG, Shuster S. 1970b. Effect of pregnancy on sebum excretion. *Br Med J*, 2 (712):769-771.
- Cachia O, Benna JE, Pedruzzi E, Descomps B, Gougerot-Pocidalo MA, Leger CL. 1998. alpha-tocopherol inhibits the respiratory burst in human monocytes. Attenuation of p47(phox) membrane translocation and phosphorylation. *J Biol Chem*, 273 (49):32801-32805.
- Callens A, Vaillant L, Lecomte P, Berson M, Gall Y, Lorette G. 1996. Does hormonal skin aging exist? A study of the influence of different hormone therapy regimens on the skin of postmenopausal women using non-invasive measurement techniques. *Dermatology*, 193 (4):289-294.
- Chiba K, Yoshizawa K, Makino I, Kawakami K, M. O. 2000. Comedogenicity of squalene monohydroperoxide in the skin after topical application. *J Toxicol Sci*, 25(2):77-83.
- Choi EH, Man MQ, Wang F, Zhang X, Brown BE, Feingold KR, Elias PM. 2005. Is endogenous glycerol a determinant of stratum corneum hydration in humans? *J Invest Dermatol*, 125 (2):288-293.
- Chojkier M, Houghlum K, Lee KS, Buck M. 1998. Long- and short-term D-alpha-tocopherol supplementation inhibits liver collagen alpha1(I) gene expression. *Am J Physiol*, 275 (6 Pt 1):G1480-1485.
- Clarys P, Barel A. 1995. Quantitative evaluation of skin surface lipids. *Clin Dermatol*, 13 (4):307-321.
- Claycombe KJ, Meydani SN. 2001. Vitamin E and genome stability. *Mutat Res*, 475 (1-2):37-44.
- Cooper MF, McGrath H, Shuster S. 1976. Sebaceous lipogenesis in human skin. Variability with age and with severity of acne. *Br J Dermatol*, 94 (2):165-172.

- Cotterill JA, Cunliffe WJ, Williamson B. 1973. Variation in skin surface lipid composition and sebum excretion rate with time. *Acta Derm Venereol*, 53 (4):271-274.
- CuDerm 29.06.2011. CuDerm | Sebutape - Sebum Production Testers [Webseite]. http://www.cuderm.com/products_sebutape_rd.php.
- Darvin ME, Haag SF, Lademann J, Zastrow L, Sterry W, Meinke MC. 2010. Formation of free radicals in human skin during irradiation with infrared light. *J Invest Dermatol*, 130 (2):629-631.
- Deplewski D, Rosenfield RL. 1999. Growth hormone and insulin-like growth factors have different effects on sebaceous cell growth and differentiation. *Endocrinology*, 140 (9):4089-4094.
- Devaraj S, Jialal I. 1999. Alpha-tocopherol decreases interleukin-1 beta release from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19 (4):1125-1133.
- Diplock AT, Xu GL, Yeow CL, Okikiola M. 1989. Relationship of tocopherol structure to biological activity, tissue uptake, and prostaglandin biosynthesis. *Ann N Y Acad Sci*, 570:72-84.
- Downing DT, Strauss JS. 1982. On the mechanism of sebaceous secretion. *Arch Dermatol Res*, 272 (3-4):343-349.
- Downing DT, Strauss JS, Pochi PE. 1972. Changes in skin surface lipid composition induced by severe caloric restriction in man. *Am J Clin Nutr*, 25 (4):365-367.
- Downing DT, Stewart ME, Wertz PW, Strauss JS. 1986. Essential fatty acids and acne. *J Am Acad Dermatol*, 14 (2 Pt 1):221-225.
- Downing DT, Stewart ME, Wertz PW, Colton SW, Abraham W, Strauss JS. 1987. Skin lipids: an update. *J Invest Dermatol*, 88 (3 Suppl):2s-6s.
- Dreher F, Gabard B, Schwindt DA, Maibach HI. 1998. Topical melatonin in combination with vitamins E and C protects skin from ultraviolet-induced erythema: a human study in vivo. *Br J Dermatol*, 139 (2):332-339.
- Ekanayake-Mudiyanse S, Kraemer K, Thiele JJ. 2005. Oral Supplementation with All-Rac- and RRR- α -Tocopherol Increases Vitamin E Levels in Human Sebum after a Latency Period of 14 - 21 Days. *Ann NY Acad Sci*, 1031:184-194.
- Ekanayake Mudiyanse S, Elsner P, Thiele JJ. 2003a. SPT: A new screening test for phototoxicity and photoprotection of topical formulation. *Arch Dermatol Res*, 294 (10-11):493.
- Ekanayake Mudiyanse S, Hamburger M, Elsner P, Thiele JJ. 2003b. Ultraviolet a induces generation of squalene monohydroperoxide isomers in human sebum and skin surface lipids in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol*, 120 (6):915-922.
- Elias PM. 1983. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J Invest Dermatol*, 80 Suppl:44s-49s.
- Elias PM, Feingold KR. 1992. Lipids and the epidermal water barrier: metabolism, regulation, and pathophysiology. *Semin Dermatol*, 11 (2):176-182.
- Elias PM, Brown BE, Ziboh VA. 1980. The permeability barrier in essential fatty acid deficiency: evidence for a direct role for linoleic acid in barrier function. *J Invest Dermatol*, 74 (4):230-233.
- Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. 1991. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr*, 53 (1 Suppl):314S-321S.

- Factor VM, Laskowska D, Jensen MR, Woitach JT, Popescu NC, Thorgeirsson SS. 2000. Vitamin E reduces chromosomal damage and inhibits hepatic tumor formation in a transgenic mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 (5):2196-2201.
- Fluhr JW, Mao-Qiang M, Brown BE, Wertz PW, Crumrine D, Sundberg JP, Feingold KR, Elias PM. 2003. Glycerol regulates stratum corneum hydration in sebaceous gland deficient (asebia) mice. *J Invest Dermatol*, 120 (5):728-737.
- Fritsch P. 1990. *Dermatologie*. 2 Aufl.: Springer.
- Fryer MJ. 1993. Evidence for the photoprotective effects of vitamin E. *Photochem Photobiol*, 58 (2):304-312.
- Fuchs J. 1992. *Oxidative injury in dermatopathology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Fuchs J, Thiele J. 1998. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy. *Free Radic Biol Med*, 24 (5):835-847.
- Fuchs J, Kern H. 1998. Modulation of UV-light-induced skin inflammation by D-alpha-tocopherol and L-ascorbic acid: a clinical study using solar simulated radiation. *Free Radic Biol Med*, 25 (9):1006-1012.
- Geller AC, Colditz G, Oliveria S, Emmons K, Jorgensen C, Aweh GN, Frazier AL. 2002. Use of sunscreen, sunburning rates, and tanning bed use among more than 10 000 US children and adolescents. *Pediatrics*, 109 (6):1009-1014.
- Gensler HL, Magdaleno M. 1991. Topical vitamin E inhibition of immunosuppression and tumorigenesis induced by ultraviolet irradiation. *Nutr Cancer*, 15 (2):97-106.
- Godar DE. 2001. UV doses of American children and adolescents. *Photochem Photobiol*, 74 (6):787-793.
- Gonzalez S, Pathak MA. 1996. Inhibition of ultraviolet-induced formation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, erythema and skin photosensitization by polypodium leucotomos. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 12 (2):45-56.
- Hansen HS, Jensen B. 1985. Essential function of linoleic acid esterified in acylglucosylceramide and acylceramide in maintaining the epidermal water permeability barrier. Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, arachidonate, columbinic acid and alpha-linolenic acid. *Biochim Biophys Acta*, 834 (3):357-363.
- Harris HH, Downing DT, Stewart ME, Strauss JS. 1983. Sustainable rates of sebum secretion in acne patients and matched normal control subjects. *J Am Acad Dermatol*, 8 (2):200-203.
- Jacobsen E, Billings JK, Frantz RA, Kinney CK, Stewart ME, Downing DT. 1985. Age-related changes in sebaceous wax ester secretion rates in men and women. *J Invest Dermatol*, 85 (5):483-485.
- Kainz B. 2004. Antioxidantien in Lebensmitteln - kritisch betrachtet, 18. und 19. November 2004. Jahrestagung der ÖGE GÖCH VÖLB.
- Kanno T, Utsumi T, Kobuchi H, Takehara Y, Akiyama J, Yoshioka T, Horton AA, Utsumi K. 1995. Inhibition of stimulus-specific neutrophil superoxide generation by alpha-tocopherol. *Free Radic Res*, 22 (5):431-440.
- Kanno T, Utsumi T, Takehara Y, Ide A, Akiyama J, Yoshioka T, Horton AA, Utsumi K. 1996. Inhibition of neutrophil-superoxide generation by alpha-tocopherol and coenzyme Q. *Free Radic Res*, 24 (4):281-289.
- Kearney JN, Harnby D, Gowland G, Holland KT. 1984. The follicular distribution and abundance of resident bacteria on human skin. *J Gen Microbiol*, 130 (Pt 4):797-801.

- Kligman AM, Shelley WB. 1958. An investigation of the biology of the human sebaceous gland. *J Invest Dermatol*, 30 (3):99-125.
- Landmann L. 1991. [The permeability barrier of the skin]. *Pharm Unserer Zeit*, 20 (4):155-163.
- Lehmann J, Pollet D, Peker S, Steinkraus V, Hoppe U. 1998. Kinetics of DNA strand breaks and protection by antioxidants in UVA- or UVB-irradiated HaCaT keratinocytes using the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res*, 407 (2):97-108.
- Letawe C, Boone M, Pierard GE. 1998. Digital image analysis of the effect of topically applied linoleic acid on acne microcomedones. *Clin Exp Dermatol*, 23 (2):56-58.
- Lowe NJ, Stoughton RB. 1977. Essential fatty acid deficient hairless mouse: a model of chronic epidermal hyperproliferation. *Br J Dermatol*, 96 (2):155-162.
- Mackenzie IC, Linder JE. 1973. An examination of cellular organization within the stratum corneum by a silver staining method. *J Invest Dermatol*, 61 (4):245-250.
- Makrantonaki E, Ganceviciene R, Zouboulis C. 2011. An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinol*, 3 (1):41-49.
- Mancini AJ. 2004. *Skin. Pediatrics*, 113 (4 Suppl):1114-1119.
- Martignoni E, Godi L, Pacchetti C, Berardesca E, Vignoli GP, Albani G, Mancini F, Nappi G. 1997. Is seborrhea a sign of autonomic impairment in Parkinson's disease? *J Neural Transm*, 104 (11-12):1295-1304.
- Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB, Leka LS, Siber G, Loszewski R, Thompson C, Pedrosa MC, Diamond RD, Stollar BD. 1997. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. *Jama*, 277 (17):1380-1386.
- Mills OH, Porte M, Kligman AM. 1978. Enhancement of comedogenic substances by ultraviolet irradiation. *Brit J Dermatol*, 98:145-150.
- Motta S, Monti M, Sesana S, Mellesi L, Ghidoni R, Caputo R. 1994. Abnormality of water barrier function in psoriasis. Role of ceramide fractions. *Arch Dermatol*, 130 (4):452-456.
- Nachbar F, Korting HC. 1995. The role of vitamin E in normal and damaged skin. *J Mol Med*, 73 (1):7-17.
- Nakagawa K, Shibata A, Maruko T, Sookwong P, Tsuduki T, Kawakami K, Nishida H, Miyazawa T. 2010. gamma-Tocotrienol reduces squalene hydroperoxide-induced inflammatory responses in HaCaT keratinocytes. *Lipids*, 45 (9):833-841.
- Oakes SR, Haynes KM, Waters MJ, Herington AC, Werther GA. 1992. Demonstration and localization of growth hormone receptor in human skin and skin fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab*, 75 (5):1368-1373.
- Otberg N, Richter H, Schaefer H, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J. 2004. Variations of hair follicle size and distribution in different body sites. *J Invest Dermatol*, 122 (1):14-19.
- Ottaviani M, Alestas T, Flori E, Mastrofrancesco A, Zouboulis CC, Picardo M. 2006. Peroxidated squalene induces the production of inflammatory mediators in HaCaT keratinocytes: a possible role in acne vulgaris. *J Invest Dermatol*, 126 (11):2430-2437.
- Pablo GM, Fulton JE, Jr. 1975. Sebum: analysis by infrared spectroscopy. II. The suppression of fatty acids by systemically administered antibiotics. *Arch Dermatol*, 111 (6):734-735.

- Paige DG, Morse-Fisher N, Harper JJ. 1994. Quantification of stratum corneum ceramides and lipid envelope ceramides in the hereditary ichthyoses. *Br J Dermatol*, 131 (1):23-27.
- Pappas A, Anthonavage M, Gordon JS. 2002. Metabolic fate and selective utilization of major fatty acids in human sebaceous gland. *J Invest Dermatol*, 118 (1):164-171.
- Pappas A, Johnsen S, Liu JC, Eisinger M. 2009. Sebum analysis of individuals with and without acne. *Dermatoendocrinol*, 1 (3):157-161.
- Parrish JA OUP, New York. 1983. Responses of skin to visible and ultraviolet radiation. vol. 2. ed Goldsmith (Oxford University Press, New York):20.
- Peus D, Meves A, Pott M, Beyerle A, Pittelkow MR. 2001. Vitamin E analog modulates UVB-induced signaling pathway activation and enhances cell survival. *Free Radic Biol Med*, 30 (4):425-432.
- Peus D, Meves A, Vasa RA, Beyerle A, O'Brien T, Pittelkow MR. 1999a. H₂O₂ is required for UVB-induced EGF receptor and downstream signaling pathway activation. *Free Radic Biol Med*, 27 (11-12):1197-1202.
- Peus D, Vasa RA, Beyerle A, Meves A, Krautmacher C, Pittelkow MR. 1999b. UVB activates ERK1/2 and p38 signaling pathways via reactive oxygen species in cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 112 (5):751-756.
- Peus D, Vasa RA, Meves A, Pott M, Beyerle A, Squillace K, Pittelkow MR. 1998. H₂O₂ is an important mediator of UVB-induced EGF-receptor phosphorylation in cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 110 (6):966-971.
- Pierard-Franchimont C, Pierard GE. 1988. [Physiopathological approach to seborrhea of the scalp]. *Ann Dermatol Venereol*, 115 (4):451-453.
- Pierard-Franchimont C, Pierard GE, Kligman AM. 1991. Rhythm of sebum excretion during the menstrual cycle. *Dermatologica*, 182 (4):211-213.
- Pierard-Franchimont C, Martalo O, Richard A, Rougier A, Pierard GE. 1999. Sebum rheology evaluated by two methods in vivo. Split-face study of the effect of a cosmetic formulation. *Eur J Dermatol*, 9 (6):455-457.
- Pierard G, Pierard-Franchimont C. 1992. The Sebutape technique for monitoring androgen dependent disorders. *Eur J Med*, 1 (2):109-112.
- Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Le T. 1987a. Seborrhoea in acne-prone and acne-free patients. *Dermatologica*, 175 (1):5-9.
- Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Saint-Leger D, Leveque JL. 1985. [Sebum and seborrhea]. *Rev Med Liege*, 40 (6):197-203.
- Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Le T, Lapiere C. 1987b. Patterns of follicular sebum excretion rate during lifetime. *Arch Dermatol Res*, 279 Suppl:S104-107.
- Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Marks R, Paye M, Rogiers V. 2000. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin greasiness. The EEMCO Group. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 13 (6):372-389.
- Pincheira J, Navarrete MH, de la Torre C, Tapia G, Santos MJ. 1999. Effect of vitamin E on chromosomal aberrations in lymphocytes from patients with Down's syndrome. *Clin Genet*, 55 (3):192-197.
- Placzek M, Gaube S, Kerkmann U, Gilbertz KP, Herzinger T, Haen E, Przybilla B. 2005. Ultraviolet B-Induced DNA Damage in Human Epidermis Is Modified by the Antioxidants Ascorbic Acid and d-alpha-Tocopherol. *J Invest Dermatol*, 124 (2):304-307.
- Plewig G, Marples RR. 1970. Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. I. *J Invest Dermatol*, 54 (1):13-18.

- Plewig G, Christophers E. 1974. Renewal rate of human sebaceous glands. *Acta Derm Venereol*, 54 (3):177-182.
- Pochi PE, Downing DT, Strauss JS. 1970. Sebaceous gland response in man to prolonged total caloric deprivation. *J Invest Dermatol*, 55 (5):303-309.
- Pochi PE, Strauss JS, Downing DT. 1979. Age-related changes in sebaceous gland activity. *J Invest Dermatol*, 73 (1):108-111.
- Prottey C, Hartop PJ, Press M. 1975. Correction of the cutaneous manifestations of essential fatty acid deficiency in man by application of sunflower-seed oil to the skin. *J Invest Dermatol*, 64 (4):228-234.
- Ramasasthy P, Downing DT, Pochi PE, Strauss JS. 1970. Chemical composition of human skin surface lipids from birth to puberty. *J Invest Dermatol*, 54 (2):139-144.
- Rook/Wilkinson/Ebling. 1998. Rook/ Wilkinson/ Ebling's Textbook of Dermatology. 6 Aufl. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Royack GA, Nguyen MP, Tong DC, Poot M, Oda D. 2000. Response of human oral epithelial cells to oxidative damage and the effect of vitamin E. *Oral Oncol*, 36 (1):37-41.
- Ryu A, Arakane K, Koide C, Arai H, Nagano T. 2009. Squalene as a target molecule in skin hyperpigmentation caused by singlet oxygen. *Biol Pharm Bull*, 32 (9):1504-1509.
- Saint-Leger D. 1982. [Skin surface lipids in man. Evaluation and perspectives of research]. *Ann Dermatol Venereol*, 109 (4):379-392.
- Saint-Leger D, Bague A, Lefebvre E, Cohen E, Chivot M. 1986. A possible role for squalene in the pathogenesis of acne. II. In vivo study of squalene oxides in skin surface and intra-comedonal lipids of acne patients. *Br J Dermatol*, 114 (5):543-552.
- Sander CS, Chang H, Müller CSL, Ekanayake S, Elsner P, Thiele JJ. 2002. Photoaging is associated with protein oxidation in Human skin in vivo. *J Invest Dermatol*, 118:618-625.
- Schürer NY. 1993. Die fette Haut. *Zeitschrift für Haut- und Geschlechtskrankheiten*, 68 (10):636-640.
- Shindo Y, Witt E, Han D, Tzeng B, Aziz T, Nguyen L, Packer L. 1994. Recovery of antioxidants and reduction in lipid hydroperoxides in murine epidermis and dermis after acute ultraviolet radiation exposure. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 10 (5):183-191.
- Sies H. 1986. Biochemie des oxidativen Streß. *Angew Chemie*, 98:1061-1075.
- Simon M, Green H. 1984. Participation of membrane-associated proteins in the formation of the cross-linked envelope of the keratinocyte. *Cell*, 36 (4):827-834.
- Slamenova D, Horvathova E, Kosikova B, Ruzekova L, Labaj J. 1999. Detection of lignin biopolymer- and vitamin E-stimulated reduction of DNA strand breaks in H₂O₂- and MNNG-treated mammalian cells by the comet assay. *Nutr Cancer*, 33 (1):88-94.
- Smith KR, Thiboutot DM. 2008. Thematic review series: skin lipids. Sebaceous gland lipids: friend or foe? *J Lipid Res*, 49 (2):271-281.
- Smith WP, Christensen MS, Nacht S, Gans EH. 1982. Effect of lipids on the aggregation and permeability of human stratum corneum. *J Invest Dermatol*, 78 (1):7-11.
- Sorg O, Tran C, Saurat JH. 2001. Cutaneous vitamins A and E in the context of ultraviolet- or chemically-induced oxidative stress. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 14 (6):363-372.

- Stefaniak AB, Harvey CJ, Wertz PW. 2010. Formulation and stability of a novel artificial sebum under conditions of storage and use. *Int J Cosmet Sci*.
- Stern RS, Weinstein MC, Baker SG. 1986. Risk reduction for nonmelanoma skin cancer with childhood sunscreen use. *Arch Dermatol*, 122 (5):537-545.
- Sterry W, Burgdorf W, Paus R. 2010. Checkliste Dermatologie. Stuttgart: Thieme.
- Stewart ME. 1992. Sebaceous gland lipids. *Semin Dermatol*, 1992:100-105.
- Stewart ME, Downing DT. 1985. Measurement of sebum secretion rates in young children. *J Invest Dermatol*, 84 (1):59-61.
- Stewart ME, Downing TD. 1991. Chemistry and function of Mammalian sebaceous lipids. In: Elias PM, Hrsg. *Skin Lipids*. San Diego: Academic Press, Inc., 263-301.
- Stewart ME, Downing DT, Cook JS, Hansen JR, Strauss JS. 1992. Sebaceous gland activity and serum dehydroepiandrosterone sulfate levels in boys and girls. *Arch Dermatol*, 128 (10):1345-1348.
- Summerfield FW, Tappel AL. 1984. Effects of dietary polyunsaturated fats and vitamin E on aging and peroxidative damage to DNA. *Arch Biochem Biophys*, 233 (2):408-416.
- Swartzendruber DC, Wertz PW, Madison KC, Downing DT. 1987. Evidence that the corneocyte has a chemically bound lipid envelope. *J Invest Dermatol*, 88 (6):709-713.
- Thiele JJ. 2001. Oxidative targets in the stratum corneum. A new basis for antioxidative strategies. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 14 Suppl 1:87-91.
- Thiele JJ. 2003. Oxidativer Stress in der menschlichen Haut: Einfluss oxidativer Umweltfaktoren und Rolle des hautspezifischen antioxidativen Netzwerkes [Habilitationsschrift]. Jena: Friedrich-Schiller Universität Jena.
- Thiele JJ, Packer L. 1999. Non-Invasive Measurement of alpha-Tocopherol Gradients in Human Stratum Corneum by HPLC Analysis of Sequential Tape Strippings. *Meth Enzymol*, 300:413-419.
- Thiele JJ, Weber SU, Packer L. 1999. Sebaceous gland secretion is a major physiological route of vitamin E delivery to skin. *J Invest Dermatol*, 113 (6):1006-1010.
- Thiele JJ, Schroeter C, Hsieh SN, Podda M, Packer L. 2001. The antioxidant network of the stratum corneum. *Curr Probl Dermatol*, 29:26-42.
- Tyurina YY, Tyurin VA, Carta G, Quinn PJ, Schor NF, Kagan VE. 1997. Direct evidence for antioxidant effect of Bcl-2 in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Arch Biochem Biophys*, 344 (2):413-423.
- Verschoore M, Poncet M, Krebs B, Ortonne JP. 1993. Circadian variations in the number of actively secreting sebaceous follicles and androgen circadian rhythms. *Chronobiol Int*, 10 (5):349-359.
- Way SC. 1931. The sebaceous glands. *Archives of dermatology and syphilology*, 24 (3):353-370.
- Werninghaus K, Meydani M, Bhawan J, Margolis R, Blumberg JB, Gilchrest BA. 1994. Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch Dermatol*, 130 (10):1257-1261.
- Wertz PW, Downing DT. 1991. Epidermal lipids. In: Goldsmith LA, Hrsg. *Physiology, biochemistry, and molecular biology of the skin*. New York: Oxford University Press, 205-236.
- Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC. 2001. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: a systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control*, 12 (1):69-82.

- Yamauchi J, Iwamoto T, Kida S, Masushige S, Yamada K, Esashi T. 2001. Tocopherol-associated protein is a ligand-dependent transcriptional activator. *Biochem Biophys Res Commun*, 285 (2):295-299.
- Yoshida N, Yoshikawa T, Manabe H, Terasawa Y, Kondo M, Noguchi N, Niki E. 1999. Vitamin E protects against polymorphonuclear leukocyte-dependent adhesion to endothelial cells. *J Leukoc Biol*, 65 (6):757-763.
- Zastrow L, Groth N, Klein F, Kockott D, Lademann J, Renneberg R, Ferrero L. 2009. The missing link--light-induced (280-1,600 nm) free radical formation in human skin. *Skin Pharmacol Physiol*, 22 (1):31-44.
- Zouboulis CC. 2004. Acne and sebaceous gland function. *Clin Dermatol*, 22 (5):360-366.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Hautquerschnitt mit Epidermis, Dermis und Subcutis, modifiziert nach (Sterry et al. 2010).....	4
Abbildung 2: Histologischer Schnitt durch Haarfollikel (HF) und assoziierte Talgdrüse (TD)..<	6
Abbildung 3: Aufbau der Hautbarriere, Angriffspunkte des oxidativen Stresses, modifiziert nach (Thiele 2003)	7
Abbildung 4: Auslösefaktoren für oxidativen Stress in der Haut (Thiele 2003)	18
Abbildung 5: Vorherrschende Rolle von α -Tocopherol und sein Recycling durch Co-Antioxidantien (Thiele 2003).....	20
Abbildung 6: Chemische Strukturformel von α -Tocopherol	21
Abbildung 7: Sebutape [®] (CuDerm 2003)	34
Abbildung 8: Erwachsener Studienteilnehmer mit applizierten Sebutapes [®]	34
Abbildung 9: Sebumsqualenlevel getrennt nach Altersgruppen.....	39
Abbildung 10: Sebum α -Tocopherol-Level getrennt nach Altersgruppen	41
Abbildung 11: Verhältnis von α -Tocopherol zu Squalen im Sebum getrennt nach Altersgruppen.....	43

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung von Sebum und epidermalen Lipiden, übersetzt nach (Smith und Thiboutot 2008).....	11
Tabelle 2: Vellushaardichte (pro cm ²) in verschiedenen Körperregionen, modifiziert nach (Otberg et al. 2004)	12
Tabelle 3: Zusammenfassung der statistischen Vergleiche.....	37

11 Anhang

11.1 Originalinformation und Einverständniserklärung für Jugendliche zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden

Adolescent Assent
Sebum Protocol
April, 2004

CHILDREN'S MEMORIAL HOSPITAL
Adolescent Assent to Participate in a Research Project

Investigators at Children's Memorial Hospital invite you to consider participating in a research study entitled:

Physiological vitamin E delivery to the skin: Impact of age related sebaceous gland activity

This study is being carried out by Amy Paller, MD and her associates: Jens Thiele, MD, Swarna Ekanayake Mudiyansele, MD and Robina Seefluth, MD.

WHY IS THIS STUDY BEING DONE?

This study seeks to understand if the skin surface of children has lower levels of natural vitamin E than in adults. In addition, this study will help to better understanding how vitamin E is transported onto the skin surface. Our previous studies suggest that vitamin E is present in high amounts in the oily surface of the skin (called "sebum" or "skin surface lipids") that is produced by certain elements of the skin called "sebaceous glands". We chose to investigate the skin of babies, children, adolescents, and adults because it is known that the activity of these glands is age-dependent. Since the glands of children between two and twelve years produce less of this oil on the skin surface, it is very likely that they have less vitamin E on the skin than adults do. Since vitamin E is an important antioxidant that protects against damage (e.g. by sun exposure), finding different levels would have implications for the development of better skin care products that could help to keep the skin of children healthy.

WHAT IS INVOLVED IN THE STUDY AND HOW LONG WILL I BE IN THE STUDY?

The procedures used in this study are very simple and non-invasive (meaning that they do not require blood testing or medications to be taken). They do not damage the skin in any way, do not cause pain, and have no reported side effects.

In order to collect the "skin surface lipids" (or sebum), 4-6 small tapes (each measuring 1 by 0.5 inches) are carefully placed on the skin surface of the face (forehead or cheeks). These tapes are called "sebutapes" because they collect the "sebum" (oil) from the skin surface. The tapes work like a filter paper soaking spilled fluid. However, the skin's surface is rather oily, and therefore this process is slow and takes up to one hour. During this time, we would like to ask you not to remove the tapes. One of our experienced investigators will be around at all times in case you accidentally remove the tapes.

Since the average time of an office visit in dermatology from arrival to checkout is approximately one and a half hour, the study procedure in most cases will not cause additional waiting time for you.

Will I Be Compensated for My Participation?:

Compensation will be in the form of \$5 that will be given to you or your parent after sebum collection as reimbursement for time.

Adolescent Assent
Sebum Protocol
April, 2004

ARE THERE BENEFITS (GOOD THINGS) TO TAKING PART IN THE STUDY?

One can expect no physical benefits for the subject from participation in the study. The primary aim is to advance science. In addition to better understanding the functioning of the skin (for instance: the natural maintenance of the skin's integrity) the results of this study could have implications for the development of better skin care products specifically designed to keep the skin of children healthy.

WHAT ARE THE COSTS?

There will be no costs to participating in this study. The Department of Dermatology will cover the costs of the experimental laboratory tests that are necessary to measure the vitamin E and some other skin surface oils, partly through a gift from Colgate Palmolive Company.

WHAT ARE THE POSSIBLE RISKS OR SIDE EFFECTS (BAD THINGS) OF THE STUDY?

Since the procedure used is non-invasive, painless, and without reported side effects, there are no safety concerns. As opposed to regular tape strips (e.g. Scotch tape® or BandAid®), Sebutapes® only contain a very mild adhesive and therefore usually do not hurt when removed from the skin. No side effects are described for the Sebutape® techniques in the literature. However, after a one-hour application of the tapes we have occasionally observed slight redness and/or dryness that persisted for up to one hour due to the removing of the skin oils in the test areas. At all times, the principal investigator and his/her associates will monitor you closely.

WILL I BE TOLD ABOUT NEW INFORMATION?

The investigator will inform you if significant new findings become known during the study that might affect your willingness to continue participation in the study.

WHAT DO I DO IF I AM INJURED?

As stated above, there is less than minimal risk involved in this study. If you have any questions or desire further information concerning the availability of medical care, you may contact Dr. Edward Ogata, Chief Medical Officer, The Children's Memorial Hospital, 2300 Children's Plaza, no. 2, Chicago, Illinois, 60614-3394 [773/868-8056].

WHAT OTHER OPTIONS ARE THERE?

You may choose to withdraw from this study at any time. This will not affect the treatment for the condition that you came in.

WHO WILL KNOW ABOUT WHAT I DID IN THE STUDY OR HAVE ACCESS TO MY PRIVATE INFORMATION?

Adolescent Assent
Sebum Protocol
April, 2004

If you sign this consent form, you are giving permission for your physician and Children's Memorial Hospital to provide your medical records to the following people, agencies or companies to review and use in this research study:

- Amy Paller, MD, Jens Thiele, MD, Swarna Ekanayake Mudiyansele, MD, Robina Seefluth, MD.
- The Institutional Review Board (IRB): the commission that reviews and approves the studies, or its legally authorized representatives.

The records of this study will be kept confidential with respect to any written or oral reports to the profession or the media, making it impossible to identify you individually.

Once your doctor or Children's Memorial Hospital gives your study information from your medical record to the person or company that asked for it, your doctor or Children's Memorial Hospital cannot promise that the person or company who asked for it will not give that information to other people who may not be part of this study. In that case, these people would be able to use your study information without your permission.

This signed consent form will be placed in your medical record at Children's Memorial Hospital with a copy placed in the Principal Investigator's research file.

WHAT ARE MY RIGHTS AS A PARTICIPANT?

By signing this consent form, you agree to take part in this study. You are not giving up any of your or your legal rights or releasing this hospital from responsibility for carelessness.

You may cancel your consent and leave this study at any time without penalty or loss of benefits. Your treatment by, and relations with the physician(s) and staff at The Children's Memorial Hospital, now and in the future, will not be affected in any way if you refuse to take part, or if you enter into the study and then withdraw from it.

You can tell your doctor or Children's Memorial Hospital at any time not to use or give out your study information or other information from your medical record to other people or companies if it has nothing to do with this study. Your decision will not affect your regular care and your doctor will not change his or her feelings about you. However, you may not be able to start, or continue taking part in this study if at any time you tell your doctor or Children's Memorial Hospital not to give your study information to the people or companies that need to have this information for the study which is described in this consent form.

If you agree to take part in this research study, you will not be able to look at or ask for a copy of your health information collected for this study, while you are taking part in the study. If you wish, you will be able to ask for this information when the study is over or when you are no longer taking part in the study.

If you have any questions about the research methods, you should contact the investigators, Dr. Jens Thiele @ (312) 503-4843, Robina Seefluth, MD or Dr. Swarna Ekanayake Mudiyansele @ (312) 503-4856.

Adolescent Assent
Sebum Protocol
April, 2004

If you have any questions about your rights as a research subject, you may take them to Philip V. Spina, Chief Administrative Officer, Children's Memorial Institute for Education and Research, 2300 Children's Plaza, no. 205, Chicago, Illinois 60614-3394 [773/755-6301 (phone), 773/755-6551 (fax), pspina@childrensmemorial.org (e-mail)].

You will be given a signed and dated copy of this consent form.

SIGNATURES

I agree to let my doctor or Children's Memorial Hospital use and give out my health information in the way it is described in this assent form until the end of the research study.

I have read this assent form, and I agree to take part in this study as explained in this assent form.

Date	Signature of Child (only those 12-17 years old)	Printed name of Child
------	---	-----------------------

_____ I certify that I have explained the above to _____
(name of subject)

and believe that the signature was affixed freely. I also agree to answer any questions that may arise.

_____ Written assent was not obtainable because _____.

However, I certify that I have explained the above to _____
(name of subject)

and believe that verbal assent was freely given. I also agree to answer any questions that may arise.

_____ Verbal assent could not be obtained because _____.
(Contact IRB Chair or his/her designee for approval of a waiver of assent prior to proceeding with research).

Date	Signature of the Principal Investigator or person presenting information	Printed Name of Principal Investigator or person presenting information
------	---	--

Printed Name of Person Providing Oral Translation: _____

Relationship of Translator to Subject, Parent, or Surrogate: _____

11.2 Originalinformation und Einverständniserklärung für Erwachsene zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden

Adult Informed Consent
Sebum Protocol
April, 2004

CHILDREN'S MEMORIAL HOSPITAL Informed Consent to Participate in a Research Project

Investigators at Children's Memorial Hospital invite you to consider participating in a research study entitled:

Physiological vitamin E delivery to the skin: Impact of age related sebaceous gland activity

This study is being carried out by Amy Paller, MD and her associates: Jens Thiele, MD, Swarna Ekanayake Mudiyansele, MD and Robina Seefluth, MD.

WHY IS THIS STUDY BEING DONE?

This study seeks to understand if the skin surface of children has lower levels of natural vitamin E than in adults. In addition, this study will help to better understanding how vitamin E is transported onto the skin surface. Our previous studies suggest that vitamin E is present in high amounts in the oily surface of the skin (called "sebum" or "skin surface lipids") that is produced by certain elements of the skin called "sebaceous glands". We chose to investigate the skin of babies, children, adolescents, and adults because it is known that the activity of these glands is age-dependent. Since the glands of children between two and twelve years produce less of this oil on the skin surface, it is very likely that they have less vitamin E on the skin than adults do. Since vitamin E is an important antioxidant that protects against damage (e.g. by sun exposure), finding different levels would have implications for the development of better skin care products that could help to keep the skin of children healthy.

WHAT IS INVOLVED IN THE STUDY AND HOW LONG WILL I BE IN THE STUDY?

The procedures used in this study are very simple and non-invasive (meaning that they do not require blood testing or medications to be taken). They do not damage the skin in any way, do not cause pain, and have no reported side effects.

In order to collect the "skin surface lipids" (or sebum), 4-6 small tapes (each measuring 1 by 0.5 inches) are carefully placed on the skin surface of the face (forehead or cheeks). These tapes are called "sebutapes" because they collect the "sebum" (oil) from the skin surface. The tapes work like a filter paper soaking spilled fluid. However, the skin's surface is rather oily, and therefore this process is slow and takes up to one hour. During this time, we would like to ask you not to remove the tapes. One of our experienced investigators will be around at all times in case you accidentally remove the tapes.

Since the average time of an office visit in dermatology from arrival to checkout is approximately one and a half hour, the study procedure in most cases will not cause additional waiting time for you.

Will I Be Compensated for My Participation?:

Compensation will be in the form of a \$5 that will be given to you after sebum collection as reimbursement for time.

Adult Informed Consent
Sebum Protocol
April, 2004

ARE THERE BENEFITS (GOOD THINGS) TO TAKING PART IN THE STUDY?

One can expect no physical benefits for the subject from participation in the study. The primary aim is to advance science. In addition to better understanding the functioning of the skin (for instance: the natural maintenance of the skin's integrity) the results of this study could have implications for the development of better skin care products specifically designed to keep the skin of children healthy.

WHAT ARE THE COSTS?

There will be no costs to participating in this study. The Department of Dermatology will cover the costs of the experimental laboratory tests that are necessary to measure the vitamin E and some other skin surface oils through a gift from Colgate Palmolive Company.

WHAT ARE THE POSSIBLE RISKS OR SIDE EFFECTS (BAD THINGS) OF THE STUDY?

Since the procedure used is non-invasive, painless, and without reported side effects, there are no safety concerns. As opposed to regular tape strips (e.g. Scotch tape® or BandAid®), Sebutapes® only contain a very mild adhesive and therefore usually do not hurt when removed from the skin. No side effects are described for the Sebutape® techniques in the literature. However, after a one-hour application of the tapes we have occasionally observed slight redness and/or dryness that persisted for up to one hour due to the removing of the skin oils in the test areas. At all times, the principal investigator and his/her associates will monitor you closely.

WILL I BE TOLD ABOUT NEW INFORMATION?

The investigator will inform you if significant new findings become known during the study that might affect your willingness to continue participation in the study.

WHAT DO I DO IF I AM INJURED?

As stated above, there is less than minimal risk involved in this study.

If you have any questions or desire further information concerning the availability of medical care, you may contact Dr. Edward Ogata, Chief Medical Officer, The Children's Memorial Hospital, 2300 Children's Plaza, no. 2, Chicago, Illinois, 60614-3394 [773/868-8056].

WHAT OTHER OPTIONS ARE THERE?

You may choose to withdraw from this study at any time. This will not affect the treatment for the condition that you came in.

WHO WILL KNOW ABOUT WHAT I DID IN THE STUDY OR HAVE ACCESS TO MY PRIVATE INFORMATION?

Adult Informed Consent
Sebum Protocol
April, 2004

If you sign this consent form, you are giving permission for your physician and Children's Memorial Hospital to provide your medical records to the following people, agencies or companies to review and use in this research study:

- Amy Paller, MD, Jens Thiele, MD, Swarna Ekanayake Mudiyansele, MD, Robina Seefluth, MD.
- The Institutional Review Board (IRB): the commission that reviews and approves the studies, or its legally authorized representatives.

The records of this study will be kept confidential with respect to any written or oral reports to the profession or the media, making it impossible to identify you individually.

Once your doctor or Children's Memorial Hospital gives your study information from your medical record to the person or company that asked for it, your doctor or Children's Memorial Hospital cannot promise that the person or company who asked for it will not give that information to other people who may not be part of this study. In that case, these people would be able to use your study information without your permission.

This signed consent form will be placed in your medical record at Children's Memorial Hospital with a copy placed in the Principal Investigator's research file. If you do not have a medical record at Children's Memorial Hospital, then this signed consent form will only be kept in the Principal Investigator's research file

WHAT ARE MY RIGHTS AS A PARTICIPANT?

By signing this consent form, you agree to take part in this study. You are not giving up any of your or your legal rights or releasing this hospital from responsibility for carelessness.

You may cancel your consent and leave this study at any time without penalty or loss of benefits. Your relations with the physician(s) and staff at The Children's Memorial Hospital, now and in the future, will not be affected in any way if you refuse to take part, or if you enter into the study and then withdraw from it.

You can tell your doctor or Children's Memorial Hospital at any time not to use or give out your study information or other information from your medical record to other people or companies if it has nothing to do with this study. Your decision will not affect your regular care and your doctor will not change his or her feelings about you. However, you may not be able to start, or continue taking part in this study if at any time you tell your doctor or Children's Memorial Hospital not to give your study information to the people or companies that need to have this information for the study which is described in this consent form.

Adult Informed Consent
Sebum Protocol
April, 2004

If you agree to take part in this research study, you will not be able to look at or ask for a copy of your health information collected for this study, while your are taking part in the study. If you wish, you will be able to ask for this information when the study is over or when you are no longer taking part in the study.

If you have any questions about the research methods, you should contact the investigators, Dr. Jens Thiele @ (312) 503-4843, Robina Seefluth, MD, or Dr. Swarna Ekanayake Mudiyansele @ (312) 503-4856.

If you have any questions about your rights as a research subject, you may take them to Philip V. Spina, Chief Administrative Officer, Children's Memorial Institute for Education and Research, 2300 Children's Plaza, no. 205, Chicago, Illinois 60614-3394 [773/755-6301 (phone), 773/755-6551 (fax), pspina@childrensmemorial.org (e-mail)].

You will be given a signed and dated copy of this consent form.

SIGNATURES

I agree to let my doctor or Children's Memorial Hospital use and give out my health information in the way it is described in this assent form until the end of the research study.

I have read this assent form, and I agree to take part in this study as explained in this assent form.

Date	Signature of Subject	Printed name of Subject
------	----------------------	-------------------------

I certify that I have explained the above to _____ and believe
(name of subject)

that the signature was affixed freely. I also agree to answer any questions that may arise.

Date	Signature of Principal Investigator or person presenting information	Printed Name of Principal or person presenting information
------	---	---

t

Printed Name of Person Providing Oral Translation: _____

Relationship of Translator to Subject, Parent, or Surrogate: _____

11.3 Originalinformation und Einverständniserklärung für Teilnehmer unter 12 Jahren zum Verbleib bei teilnehmenden Probanden

Parental Consent
Sebum Protocol
January, 2004

CHILDREN'S MEMORIAL HOSPITAL
Permission for a Child to Participate in a Research Project

Investigators at Children's Memorial Hospital invite you to consider having your child participate in a research study entitled:

Physiological vitamin E delivery to the skin: Impact of age related sebaceous gland activity

This study is being carried out by Amy Paller, MD and her associates: Jens Thiele, MD, and Swarna Ekanayake Mudiyanse, MD.

WHY IS THIS STUDY BEING DONE?

This study seeks to understand if the skin surface of children has lower levels of natural vitamin E than in adults. In addition, this study will help to better understanding how vitamin E is transported onto the skin surface. Our previous studies suggest that vitamin E is present in high amounts in the oily surface of the skin (called "sebum" or "skin surface lipids") that is produced by certain elements of the skin called "sebaceous glands". We chose to investigate the skin of babies, children, adolescents, and adults because it is known that the activity of these glands is age-dependent. Since the glands of children between two and twelve years produce less of this oil on the skin surface, it is very likely that they have less vitamin E on the skin than adults do. Since vitamin E is an important antioxidant that protects against damage (e.g. by sun exposure), finding different levels would have implications for the development of better skin care products that could help to keep the skin of children healthy.

WHAT IS INVOLVED IN THE STUDY AND HOW LONG WILL MY CHILD BE IN THE STUDY?

The procedures used in this study are very simple and non-invasive (meaning that they do not require blood testing or medications to be taken). They do not damage the skin in any way, do not cause pain, and have no reported side effects.

In order to collect the "skin surface lipids" (or sebum), 4-6 small tapes (each measuring 1 by 0.5 inches) are carefully placed on the skin surface of the face (forehead or cheeks). These tapes are called "sebutapes" because they collect the "sebum" (oil) from the skin surface. The tapes work like a filter paper soaking spilled fluid. However, the skin's surface is rather oily, and therefore this process is slow and takes up to one hour. During this time, we would like to ask you to watch over your child and make sure he or she does not try to remove the tapes. One of our experienced investigators will be around at all times in case your child accidentally removes the tapes.

Parental Consent
Sebum Protocol
January, 2004

Since the average time of an office visit in dermatology from arrival to checkout is approximately one and a half hour, the study procedure in most cases will not cause additional waiting time for you.

Will I Be Compensated for My Child's Participation?

Compensation will be in the form of a \$10 gift certificate (e.g. McDonald's coupon) that will be given to you or your child after sebum collection as reimbursement for time.

ARE THERE BENEFITS (GOOD THINGS) TO TAKING PART IN THE STUDY?

One can expect no physical benefits for the subject from participation in the study. The primary aim is to advance science. In addition to better understanding the functioning of the skin (for instance: the natural maintenance of the skin's integrity) the results of this study could have implications for the development of better skin care products specifically designed to keep the skin of children healthy.

WHAT ARE THE COSTS?

There will be no costs to participating in this study. The Department of Dermatology will cover the costs of the experimental laboratory tests that are necessary to measure the vitamin E and some other skin surface lipids (squalene and its oxidation products), partly through a gift from Colgate Palmolive Company.

WHAT ARE THE POSSIBLE RISKS OR SIDE EFFECTS (BAD THINGS) OF THE STUDY?

Since the procedure used is non-invasive, painless, and without reported side effects, there are no safety concerns. As opposed to regular tape strips (e.g. Scotch tape® or BandAid®), Sebutapes® only contain a very mild adhesive and therefore usually do not hurt when removed from the skin. No side effects are described for the Sebutape® techniques in the literature. However, after a one-hour application of the tapes we have occasionally observed slight redness and/or dryness that persisted for up to one hour due to the removing of the skin oils in the test areas. At all times, the principal investigator and his/her associates will monitor your child closely.

WILL I BE TOLD ABOUT NEW INFORMATION?

The investigator will inform you if significant new findings become known during the study that might affect your willingness to continue your child's participation in the study.

WHAT DO I DO IF MY CHILD IS INJURED?

Parental Consent
Sebum Protocol
January, 2004

As stated above, there is less than minimal risk involved in this study.

If you have any questions or desire further information concerning the availability of medical care, you may contact Dr. Edward Ogata, Chief Medical Officer, The Children's Memorial Hospital, 2300 Children's Plaza, no. 2, Chicago, Illinois, 60614-3394 [773/868-8056].

WHAT OTHER OPTIONS ARE THERE?

You may choose to withdraw your child from this study at any time. This will not affect the treatment for the condition that your child came in.

WHO WILL KNOW ABOUT WHAT MY CHILD DID IN THE STUDY OR HAVE ACCESS TO MY CHILD'S PRIVATE INFORMATION?

If you sign this consent form, you are giving permission for your child's physician and Children's Memorial Hospital to provide your child's medical records to the following people, agencies or companies to review and use in this research study:

- Jens Thiele, MD, Swarna Ekanayake Mudiyansele, MD, and Amy Paller, MD.
- The Institutional Review Board (IRB): the commission that reviews and approves the studies, or its legally authorized representatives.

The records of this study will be kept confidential with respect to any written or oral reports to the profession or the media, making it impossible to identify your child individually.

Once your child's doctor or Children's Memorial Hospital gives your child's study information from your child's medical record to the person or company that asked for it, your child's doctor or Children's Memorial Hospital cannot promise that the person or company who asked for it will not give that information to other people who may not be part of this study. In that case, these people would be able to use your child's study information without your permission.

This signed consent form will be placed in your child's medical record at Children's Memorial Hospital with a copy placed in the Principal Investigator's research file.

WHAT ARE MY CHILD'S RIGHTS AS A PARTICIPANT?

Parental Consent
Sebum Protocol
January, 2004

By signing this consent form, you agree to have your child take part in this study. You are not giving up any of your or your child's legal rights or releasing this hospital from responsibility for carelessness.

You may cancel your consent and take your child out of this study at any time without penalty or loss of benefits. Your child's treatment by, and relations with the physician(s) and staff at The Children's Memorial Hospital, now and in the future, will not be affected in any way if you refuse to have your child take part, or if you enter your child into the study and then withdraw your child from it.

You can tell your child's doctor or Children's Memorial Hospital at any time not to use or give out your child's study information or other information from your child's medical record to other people or companies if it has nothing to do with this study. Your decision will not affect your child's regular care and your child's doctor will not change his or her feelings about you. However, your child may not be able to start, or continue taking part in this study if at any time you tell your child's doctor or Children's Memorial Hospital not to give your child's study information to the people or companies that need to have this information for the study which is described in this consent form.

If you agree to let your child take part in this research study, you will not be able to look at or ask for a copy of your child's health information collected for this study, while your child is taking part in the study. If you wish, you will be able to ask for this information when the study is over or when your child is no longer taking part in the study.

If you have or your child has any questions about the research methods, you should contact the investigators, Dr. Jens Thiele @ (312) 503-4843 or Dr. Swarna Ekanayake Mudiyansele @ (312) 503-4856.

If you have any questions about your child's rights as a research subject, you may take them to Philip V. Spina, Chief Administrative Officer, Children's Memorial Institute for Education and Research, 2300 Children's Plaza, no. 205, Chicago, Illinois 60614-3394 [773/755-6301 (phone), 773/755-6551 (fax), pspina@childrensmemorial.org (e-mail)].

You will be given a signed and dated copy of this consent form.

SIGNATURES

I agree to let my child's doctor or Children's Memorial Hospital use and give out my child's health information in the way it is described in this consent form until the end of the research study.

Parental Consent
Sebum Protocol
January, 2004

I have read this consent form, and I agree to have my child, _____
(child's name)
take part in this study as explained in this consent form.

Date

Signature of Parent or legal guardian

Printed name of Parent or legal guardian

I certify that I have explained the above to _____
(name of parent or legal guardian)
and believe that the signature was affixed freely. I also agree to answer any questions
that may arise.

Date

Signature of the Principal Investigator
or person presenting information

Printed Name of Principal Investigator
or person presenting information

Printed Name of Person Providing Oral Translation: _____

Relationship of Translator to Subject, Parent, or Surrogate: _____

11.4 Aushang im Children's Memorial Hospital

CHILDREN'S MEMORIAL HOSPITAL

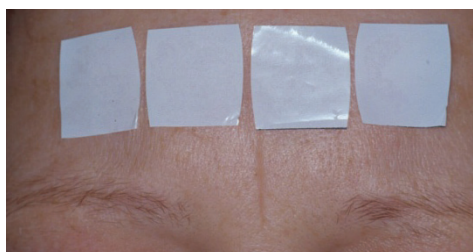
Vitamin E & your skin:

Dear children and parents,

We would like to invite you to participate in a small study on vitamin E that would be carried out while you are waiting in our clinic!

We are looking for children (all ages) and adults (parents) with healthy forehead skin. Skin surface lipids (the skin "grease") will be collected for 30 minutes from the foreheads using adhesive tapes (see figure)

This procedure is very simple and superficial. It does not hurt and is not known to cause any side effects (please see picture below).



Your sample will be used to investigate the amount of natural vitamin E in skin surface lipids in children and adults. Vitamin E is an important antioxidant that protects against damage e.g. by sun exposure. Therefore, finding lower levels in children would have implications for the development of better skin care products that could help to keep the skin of children healthy.

A compensation for your time will be paid.

If you are interested please contact the nurse at the registration desk and ask for doctor Robina Seefluth (the doctor in the white coat)

Thank you!

11.5 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Frau Dr. med. Swarna Ekanayake Mudiyansele,
Herr PD Dr. med Jens Thiele,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Berlin, 04.06.2012

11.6 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Peter Elsner, Direktor der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena, herzlich für die Möglichkeit der Promotion an seiner Klinik.

Meinem Betreuer, PD Dr. med. Jens Thiele, gilt mein besonderer Dank. Ihm durfte ich für die reizvolle Arbeit an dieser Promotion nach Chicago folgen. Er hat diese Arbeit stets engagiert betreut und mich sehr unterstützt.

Frau Dr. med. Swarna Ekanayake Mudiyansele stand mir vom Beginn der Arbeiten in Chicago bis zur Fertigstellung der Dissertation in Deutschland jederzeit lehrend und fördernd zur Seite.

Frau Amy S. Paller, MD, Chair of Dermatology and Professor of Pediatrics at Northwestern University's Feinberg School of Medicine, gilt mein Dank für das Ermöglichen meiner Forschungsarbeiten im Klinik- und Laborbereich des Department of Dermatology der Northwestern University Chicago.

Diese Arbeit wäre ohne den liebevollen Rückhalt meiner Familie, meiner Freunde und zahlreicher Arbeitskollegen nie fertiggestellt worden. Ich danke Euch allen von Herzen.